

Molecular Biology of
THE CELL
Fifth Edition

REFERENCE EDITION

Bruce Alberts

Alexander Johnson

Julian Lewis

Martin Raff

Keith Roberts

Peter Walter

With problems by

John Wilson

Tim Hunt

Брюс Альбертс
Александр Джонсон
Джулиан Льюис
Мартин Рэфф
Кит Робертс
Питер Уолтер

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

С задачами
Джона Уилсона и Тима Ханта

Том III

Перевод с английского
А. Н. Дьяконовой, П. В. Дюбы и А. А. Светлова

Под редакцией
Е. С. Шилова, Б. П. Копнина
М. А. Лагарьковой, Д. В. Купраша



Москва ♦ Ижевск
2013

УДК 576.3
ББК 28.050
М75

Научные редакторы

Том I: д. б. н., Миронов А. А., к. х. н. Мочалова Л. В.

Том II: к. х. н. Богачева Е. Н., д. х. н. Шатский И. Н.

Том III: к. х. н. Богачева Е. Н. (гл. 19–21, разд. 22.1–22.7), к. х. н. Теренин И. М. (разд. 22.8–22.9, гл. 23), к. б. н. Захарова Н. И. (гл. 24–25), асп. Шилов Е. С. (гл. 19–25, глоссарий), д. б. н. Копнин Б. П. (гл. 20), д. б. н. Лагарькова М. А. (гл. 21–23, глоссарий), д. б. н. Купраш Д. В. (гл. 19, 24–25, глоссарий), Миронов А. А., Шатский И. Н., Мочалова Л. В. (глоссарий)

Ответственный редактор

Мочалова Л. В.

Переводчики

Светлов А. А. (главы 1–6, 22–25), Карлова О. В. (глава 7),

Дьяконова А. Н. (главы 8–17, глоссарий), Дюба П. В. (главы 18–21)

Молекулярная биология клетки: в 3-х томах. Т. III / Б. Альбертс, А. Джонсон, Д. Льюис и др. — М.—Ижевск: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика», Институт компьютерных исследований, 2013. — 1028 стр.

Вот уже почти четверть века «Молекулярная биология клетки» остается основным учебником по данному предмету. Авторы рассказывают историю биологии клетки, искусно извлекая самые важные концепции из этой обширной и постоянно развивающейся области знания и выстраивая стройную и логическую систему, которая помогает читателям приблизиться к пониманию сложнейших тем и насладиться их изучением. Появившееся в 2008 году пятое издание книги «Molecular Biology of the Cell» представляет собой полностью пересмотренный и обновленный вариант знаменитого учебника. Здесь представлено большое количество нового материала по эпигенетике, стволовым клеткам, сравнительной геномике, последним достижениям в лечении раковых заболеваний.

Книга предназначена для студентов, аспирантов и научных работников биологических и медицинских специальностей.

ISBN 978-0-8153-4111-6 (англ.)

ISBN 978-5-93972-???-?

© Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter, 2008, 2002

© Bruce Alberts, Denis Bray, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, James D. Watson, 1983, 1989, 1994

© Ижевский институт компьютерных исследований (перевод на рус. яз.), 2012

Перевод англоязычного издания *Molecular Biology of the Cell (MBOC), 5nd ed.* / Dr. Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter Walter опубликован с разрешения издательства Garland Science, являющегося подразделением компании Taylor & Francis Group LLC.

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть перепечатана, воспроизведена, передана или использована в какой бы то ни было форме электронными, механическими или любыми иными средствами, которые известны в настоящее время или будут изобретены впоследствии, включая фотокопирование, запись на магнитный носитель, микросъемку, или при помощи любой другой системы хранения и обработки информации, если на то нет письменного разрешения издательства.

Краткое содержание

ТОМ I

| | |
|--|-------|
| Содержание..... | vii |
| Дополнительный иллюстративный материал | xxi |
| Предисловие редакторов перевода..... | xxiii |
| Предисловие..... | xxv |
| Примечания для читателя | xxix |

ЧАСТЬ I. ВВЕДЕНИЕ В МИР КЛЕТКИ

| | |
|--|-----|
| Глава 1. Клетки и геномы | 1 |
| Глава 2. Химия клетки и биосинтез..... | 68 |
| Глава 3. Белки..... | 190 |

ЧАСТЬ II. ОСНОВНЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ

| | |
|---|-----|
| Глава 4. ДНК, хромосомы и геномы | 299 |
| Глава 5. Репликация, репарация и рекомбинация ДНК..... | 404 |
| Глава 6. Клеточные механизмы считывания генома: путь от ДНК к белку ... | 505 |
| Глава 7. Контроль генной экспрессии..... | 634 |

ТОМ II

| | |
|--|-----|
| Содержание..... | vii |
| Дополнительный иллюстративный материал | xxv |

ЧАСТЬ III. ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ

| | |
|--|-----|
| Глава 8. Манипулирование белками, ДНК и РНК..... | 775 |
| Глава 9. Визуализация клеток..... | 892 |

ЧАСТЬ IV. ВНУТРЕННЯЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КЛЕТКИ

| | |
|--|------|
| Глава 10. Структура мембраны..... | 955 |
| Глава 11. Мембранный транспорт малых молекул и электрические свойства мембраны | 1004 |

| | |
|--|------|
| Глава 12. Внутриклеточные компартменты и сортировка белков | 1069 |
| Глава 13. Внутриклеточный везикулярный транспорт | 1151 |
| Глава 14. Преобразование энергии: митохондрии и хлоропласты..... | 1250 |
| Глава 15. Механизмы межклеточной сигнализации..... | 1348 |
| Глава 16. Цитоскелет | 1483 |
| Глава 17. Клеточный цикл | 1620 |
| Глава 18. Апоптоз | 1713 |

ТОМ III

| | |
|--|-------|
| Содержание..... | vii |
| Дополнительный иллюстративный материал | xxiii |

ЧАСТЬ V. КЛЕТКИ В КОНТЕКСТЕ ИХ СОВОКУПНОСТИ

| | |
|--|------|
| Глава 19. Клеточные контакты, адгезия и внеклеточный матрикс | 1739 |
| Глава 20. Рак..... | 1849 |
| Глава 21. Половое размножение: мейоз, половые клетки и оплодотворение | 1941 |
| Глава 22. Развитие многоклеточных организмов..... | 1995 |
| Глава 23. Специализированные ткани, стволовые клетки и обновление тканей | 2168 |
| Глава 24. Патогены, инфекция и врожденный иммунитет | 2274 |
| Глава 25. Система приобретенного иммунитета | 2361 |
| Словарь терминов..... | 2462 |
| Предметный указатель | 2574 |
| Благодарности | 2713 |

Содержание

| | |
|---|-------------|
| Краткое содержание | v |
| Дополнительный иллюстративный материал | xxiii |
| Часть V. Клетки в контексте их совокупности | |
| Глава 19. Клеточные контакты, адгезия и внеклеточный матрикс | 1739 |
| 19.1. Кадгерины и межклеточные адгезионные контакты | 1742 |
| 19.1.1. Кадгерины опосредуют Ca^{2+} -зависимую межклеточную адгезию у всех животных | 1744 |
| 19.1.2. Суперсемейство кадгеринов у позвоночных включает в себя сотни различных белков, в том числе многие сигнальные белки | 1746 |
| 19.1.3. Кадгерины опосредуют гомофильную адгезию | 1747 |
| 19.1.4. Селективная межклеточная адгезия позволяет диссоциированным клеткам позвоночных собираться вновь, образуя ткани | 1749 |
| 19.1.5. Кадгерины контролируют расслаивание клеток | 1752 |
| 19.1.6. Twist регулирует эпителиально-мезенхимальные переходы | 1753 |
| 19.1.7. Катенины связывают классические кадгерины с актиновым цитоскелетом | 1754 |
| 19.1.8. Адгезионные контакты координируют актин-опосредованную подвижность соседних клеток | 1755 |
| 19.1.9. Десмосомы придают эпителию механическую прочность | 1756 |
| 19.1.10. Межклеточные контакты посылают сигналы внутрь клетки | 1758 |
| 19.1.11. Селектины опосредуют временные межклеточные контакты в кровяном потоке | 1760 |
| 19.1.12. Белки суперсемейства иммуноглобулинов участвуют в Ca^{2+} -независимой межклеточной адгезии | 1761 |
| 19.1.13. В формировании синапса участвуют многие молекулы клеточной адгезии | 1762 |
| 19.1.14. Соединительные комплексы образуются благодаря белкам скэффолда | 1763 |
| <i>Заключение</i> | 1766 |
| 19.2. Плотные контакты и организация эпителия | 1767 |
| 19.2.1. Плотные контакты образуют затвор между клетками и ограждение между областями мембраны | 1767 |
| 19.2.2. Белки скэффолда в соединительных комплексах играют ключевую роль в управлении пролиферацией клеток | 1771 |
| 19.2.3. Межклеточные контакты и базальная мембрана управляют апикально-базальной полярностью клеток | 1773 |
| 19.2.4. Отдельная сигнальная система контролирует плоскостную полярность клеток | 1777 |
| <i>Заключение</i> | 1778 |
| 19.3. Пути перехода веществ из клетки в клетку: щелевые контакты и плазмодесмы | 1779 |
| 19.3.1. Щелевые контакты обеспечивают электрическое и метаболическое сопряжение клеток | 1779 |
| 19.3.2. Коннексон щелевого контакта состоит из шести трансмембранных субъединиц | 1780 |

| | | |
|----------|--|------|
| 19.3.3. | Щелевые контакты выполняют разнообразные функции..... | 1781 |
| 19.3.4. | Клетки могут регулировать проницаемость щелевых контактов | 1783 |
| 19.3.5. | У растений плазмодесмы выполняют многие функции, присущие щелевым контактам у животных..... | 1784 |
| | <i>Заключение</i> | 1786 |
| 19.4. | Базальная мембрана..... | 1786 |
| 19.4.1. | Базальные мембраны выстилают все виды эпителия, а также окружают некоторые неэпителиальные клетки..... | 1787 |
| 19.4.2. | Ламинин — основной компонент базальной мембраны | 1788 |
| 19.4.3. | Коллаген IV типа придает базальной мембране прочность на разрыв.. | 1789 |
| 19.4.4. | Базальные мембраны выполняют разнообразные функции..... | 1791 |
| | <i>Заключение</i> | 1793 |
| 19.5. | Интегрины и прикрепление клеток к матриксу | 1794 |
| 19.5.1. | Интегрины — трансмембранные гетеродимеры, связанные с цитоскелетом | 1795 |
| 19.5.2. | Интегрины могут переходить из активного в неактивное состояние, и наоборот | 1796 |
| 19.5.3. | Нарушения, связанные с интегринными, лежат в основе многих генетических заболеваний..... | 1798 |
| 19.5.4. | Интегрины группируются, образуя прочные контакты..... | 1801 |
| 19.5.5. | Прикрепленные к внеклеточному матриксу соединения действуют через интегрины на деление и выживание клеток | 1802 |
| 19.5.6. | Интегрины привлекают внутриклеточные сигнальные белки к точкам прикрепления клетки к субстрату | 1803 |
| 19.5.7. | Интегрины могут вызывать локализованные внутриклеточные эффекты..... | 1805 |
| | <i>Заключение</i> | 1805 |
| 19.6. | Внеклеточный матрикс соединительных тканей животных | 1806 |
| 19.6.1. | Внеклеточный матрикс вырабатывают и упорядочивают находящиеся в нем клетки..... | 1807 |
| 19.6.2. | Гликозаминогликановые цепи (GAG) занимают много места и формируют гидратированный гель | 1808 |
| 19.6.3. | Гиалуронаны действуют как пространственный фильтр и облегчают миграцию клеток при морфогенезе ткани и ее восстановлении..... | 1810 |
| 19.6.4. | Протеогликаны представляют собой гликозаминогликановые цепи, ковалентно сшитые с белком | 1811 |
| 19.6.5. | Протеогликаны могут регулировать активность секретлируемых белков | 1813 |
| 19.6.6. | Протеогликаны на поверхности клетки действуют как корцепторы. | 1815 |
| 19.6.7. | Коллагены — основные белки внеклеточного матрикса | 1815 |
| 19.6.8. | Коллагеновые цепочки претерпевают ряд посттрансляционных модификаций | 1819 |
| 19.6.9. | Пропептиды отщепляются от проколлагена после его секреции, позволяя формироваться фибриллам | 1819 |
| 19.6.10. | Внеклеточные коллагены, ассоциированные с фибриллами, способствуют их сборке..... | 1821 |
| 19.6.11. | Клетки участвуют в организации секретлируемых ими коллагеновых фибрилл, изменяя натяжение матрикса | 1822 |
| 19.6.12. | Эластин придает тканям упругость | 1824 |
| 19.6.13. | Фибронектин — внеклеточный белок, способствующий прикреплению клеток к матриксу | 1826 |
| 19.6.14. | Натяжение, создаваемое клетками, регулирует сборку фибрилл фибронектина..... | 1826 |

| | |
|---|-------------|
| 19.6.15. Фибронектины связываются с интегринами с помощью RGD-последовательности | 1827 |
| 19.6.16. Клеткам приходится не только вырабатывать матрикс, но и разрушать его | 1829 |
| 19.6.17. Деградация матрикса происходит вблизи клеток | 1829 |
| <i>Заключение</i> | 1831 |
| 19.7. Клеточная стенка растений | 1832 |
| 19.7.1. Состав клеточной стенки зависит от типа самой клетки | 1832 |
| 19.7.2. Высокая прочность клеточной стенки на разрыв позволяет растительным клеткам выдерживать тургорное давление | 1834 |
| 19.7.3. Основу первичной клеточной стенки составляют целлюлозные микрофибриллы, вплетенные в сетку пектиновых полисахаридов | 1834 |
| 19.7.4. Отложение ориентированных волокон клеточной стенки контролирует на рост клетки | 1837 |
| 19.7.5. Ориентацию микрофибрилл определяют микротрубочки | 1839 |
| <i>Заключение</i> | 1842 |
| <i>Задачи</i> | 1842 |
| <i>Литература</i> | 1845 |
| Глава 20. Рак | 1849 |
| 20.1. Рак как микроэволюционный процесс | 1849 |
| 20.1.1. Раковые клетки неограниченно размножаются и внедряются в другие ткани | 1850 |
| 20.1.2. В большинстве случаев рак развивается из одной аномальной клетки .. | 1853 |
| 20.1.3. Раковые клетки содержат соматические мутации | 1854 |
| 20.1.4. Одной мутации недостаточно, чтобы вызвать рак | 1855 |
| 20.1.5. Раковые клетки постепенно накапливают аномалии | 1856 |
| 20.1.6. Рак шейки матки можно предотвратить с помощью ранней диагностики | 1857 |
| 20.1.7. Процесс прогрессирования опухоли состоит из последовательных циклов наследственных изменений, сопровождаемых естественным отбором | 1859 |
| 20.1.8. Эпигенетические изменения, происходящие в раковых клетках, включают наследуемые хроматиновые структуры и метилирование ДНК | 1861 |
| 20.1.9. Клетки рака человека генетически нестабильны | 1861 |
| 20.1.10. Рост раковой опухоли часто происходит из-за нарушенной регуляции клеточной смерти и/или деления клеток | 1864 |
| 20.1.11. Раковые клетки обычно по-другому реагируют на повреждения ДНК и другие стрессовые воздействия | 1865 |
| 20.1.12. Раковые клетки у человека могут обходить естественные ограничения пролиферации | 1866 |
| 20.1.13. Небольшая популяция раковых стволовых клеток ответственна за развитие многих опухолей | 1867 |
| 20.1.14. Как возникают раковые стволовые клетки? | 1868 |
| 20.1.15. Чтобы образовать метастазы, злокачественные раковые клетки должны выжить и размножиться в новой ткани | 1870 |
| 20.1.16. Опухоли индуцируют ангиогенез | 1872 |
| 20.1.17. На развитие раковой опухоли влияет ее микроокружение | 1873 |
| 20.1.18. Как правило, у раковых* клеток есть несколько характерных признаков | 1874 |
| <i>Заключение</i> | 1874 |
| 20.2. Профилактика рака | 1875 |

| | | |
|----------|--|------|
| 20.2.1. | Многие (но не все) канцерогенные факторы повреждают ДНК | 1877 |
| 20.2.2. | Инициаторы канцерогенеза, в отличие от промоторов канцерогенеза, повреждают ДНК | 1879 |
| 20.2.3. | Вирусные и невирусные инфекции вносят вклад в развитие значительной части опухолей у человека | 1881 |
| 20.2.4. | Идентификация канцерогенов подсказывает способ предотвращения рака | 1882 |
| | <i>Заключение</i> | 1884 |
| 20.3. | Обнаружение генов, критичных для развития рака | 1885 |
| 20.3.1. | Мутации, приводящие к увеличению или снижению активности генов, идентифицируют разными методами..... | 1886 |
| 20.3.2. | Ретровирусы могут действовать как векторы, переносящие онкогены и изменяющие поведение клетки..... | 1886 |
| 20.3.3. | Результаты разных исследований указывают на один и тот же ген — <i>Ras</i> | 1889 |
| 20.3.4. | Гены-супрессоры опухоли впервые обнаружены при исследовании редких наследственных форм опухолей..... | 1890 |
| 20.3.5. | Опухолевые супрессоры могут быть идентифицированы при исследовании самих опухолей | 1892 |
| 20.3.6. | Инактивация гена опухолевого супрессора может происходить как генетически, так и эпигенетически | 1892 |
| 20.3.7. | Активность мутантных генов в раковых клетках может повышаться многими способами | 1894 |
| 20.3.8. | Охота на гены, ответственные за рак, продолжается | 1897 |
| | <i>Заклучение</i> | 1899 |
| 20.4. | Молекулярные основы поведения раковых клеток | 1899 |
| 20.4.1. | Эксперименты на эмбрионах и на генетически модифицированных мышцах позволили выяснить функцию генов, связанных с раком | 1900 |
| 20.4.2. | Многие гены, ответственные за развитие рака, регулируют деление клеток | 1902 |
| 20.4.3. | В раковых клетках за нарушения регуляции клеточного цикла и роста могут отвечать разные механизмы | 1905 |
| 20.4.4. | Мутации в генах, регулирующих апоптоз, позволяют раковым клеткам выживать в неблагоприятных условиях..... | 1905 |
| 20.4.5. | Мутации в гене <i>p53</i> позволяют многим клеткам выживать и пролиферировать несмотря на повреждения ДНК | 1907 |
| 20.4.6. | ДНК-содержащие онкогенные вирусы блокируют ключевые опухолевые супрессоры | 1910 |
| 20.4.7. | Мутации, приводящие к метастазированию, до сих пор полностью не выяснены..... | 1911 |
| 20.4.8. | Рак толстой и прямой кишки прогрессирует медленно, проходя ряд последовательных изменений | 1914 |
| 20.4.9. | Несколько ключевых генетических повреждений характерны для многих форм рака толстой и прямой кишки..... | 1916 |
| 20.4.10. | В некоторых случаях рак толстой и прямой кишки характеризуется нарушением системы репарации ошибочного спаривания | 1918 |
| 20.4.11. | Стадии прогрессирования опухоли часто коррелируют с определенными мутациями | 1920 |
| 20.4.12. | Каждый случай ракового заболевания характеризуется своим собственным набором генетических повреждений | 1921 |
| | <i>Заклучение</i> | 1922 |
| 20.5. | Лечение рака: сегодня и завтра | 1922 |
| 20.5.1. | Поиск лекарства от рака труден, но не безнадежен | 1923 |

| | |
|--|-------------|
| 20.5.2. Традиционные методы лечения опираются на генетическую нестабильность раковых клеток и нарушение регуляции их клеточного цикла..... | 1923 |
| 20.5.3. Зная причину генетической нестабильности клеток опухоли, можно разработать новые методы лечения | 1924 |
| 20.5.4. Генетическая нестабильность может способствовать устойчивости раковых клеток к лечебным воздействиям | 1925 |
| 20.5.5. Разработка новых методов терапии опирается на наши знания о биологии рака..... | 1927 |
| 20.5.6. Некоторые низкомолекулярные препараты могут специфически ингибировать онкогенные белки | 1928 |
| 20.5.7. Кровеносные сосуды опухоли являются обоснованной мишенью терапии рака | 1930 |
| 20.5.8. Во многих случаях рак можно лечить, стимулируя иммунную реакцию на конкретную опухоль | 1931 |
| 20.5.9. Одновременное лечение рака несколькими препаратами может быть более эффективным | 1931 |
| 20.5.10. Профилирование экспрессии генов может помочь провести клинически значимую классификацию онкологических заболеваний | 1932 |
| 20.5.11. Многое еще предстоит сделать..... | 1933 |
| <i>Заключение</i> | 1934 |
| <i>Задачи</i> | 1934 |
| <i>Литература</i> | 1937 |
| Глава 21. Половое размножение: мейоз, половые клетки и оплодотворение..... | 1941 |
| 21.1. Половое размножение | 1942 |
| 21.1.1. Гаплоидная фаза у высших эукариот непродолжительна..... | 1943 |
| 21.1.2. Мейоз обеспечивает генетическое многообразие | 1944 |
| 21.1.3. Половое размножение делает организмы более конкурентоспособными | 1944 |
| <i>Заключение</i> | 1945 |
| 21.2. Мейоз | 1946 |
| 21.2.1. Гаметы возникают в результате двух делений мейоза | 1946 |
| 21.2.2. В профазе I удвоенные гомологи (в том числе половые хромосомы) спариваются друг с другом | 1948 |
| 21.2.3. Конъюгация гомологов завершается образованием синаптонемного комплекса | 1950 |
| 21.2.4. В расхождении гомологов участвуют специфичные для мейоза белки, связанные с кинетохором..... | 1952 |
| 21.2.5. Часто мейоз происходит с нарушениями | 1955 |
| 21.2.6. Кроссинговер увеличивает число новых сочетаний генов | 1955 |
| 21.2.7. Кроссинговер строго регулируется | 1957 |
| 21.2.8. У самцов и самок млекопитающих мейоз регулируется по-разному .. | 1958 |
| <i>Заключение</i> | 1959 |
| 21.3. Первичные половые клетки и определение пола у млекопитающих | 1960 |
| 21.3.1. Сигналы соседних клеток определяют в эмбрионах млекопитающих будущие первичные половые клетки | 1960 |
| 21.3.2. Первичные половые клетки мигрируют в развивающиеся половые железы | 1961 |
| 21.3.3. Ген <i>Sry</i> заставляет развивающиеся половые железы млекопитающих превращаться в семенники | 1962 |
| 21.3.4. Многие характеристики полового размножения сильно изменяются от одного вида животного к другому..... | 1966 |
| <i>Заключение</i> | 1966 |

| | |
|---|-------------|
| 21.4. Яйцеклетки | 1967 |
| 21.4.1. Яйцеклетки представляют собой высокоспециализированные клетки, способные к независимому развитию | 1967 |
| 21.4.2. Яйцеклетка проходит в своем развитии несколько стадий | 1969 |
| 21.4.3. Яйцеклетка достигает крупных размеров благодаря специальным механизмам | 1971 |
| 21.4.4. Большинство яйцеклеток человека погибает до созревания | 1974 |
| <i>Заключение</i> | 1975 |
| 21.5. Сперматозоид | 1976 |
| 21.5.1. Сперматозоиды отлично приспособлены для внесения своей ДНК в яйцеклетку | 1976 |
| 21.5.2. В семенниках млекопитающих сперматозоиды образуются постоянно | 1977 |
| 21.5.3. Сперматозоиды образуют синцитий | 1979 |
| <i>Заключение</i> | 1979 |
| 21.6. Оплодотворение | 1982 |
| 21.6.1. Созревание сперматозоида завершается в женских половых путях | 1982 |
| 21.6.2. Капацитированный сперматозоид связывается с <i>zona pellucida</i> и запускает акросомную реакцию | 1983 |
| 21.6.3. Механизм слияния сперматозоида с яйцеклеткой еще неизвестен | 1984 |
| 21.6.4. Слияние со сперматозоидом активирует яйцеклетку, повышая концентрацию Ca^{2+} в цитоплазме | 1985 |
| 21.6.5. Кортикальная реакция помогает избежать полиспермии | 1986 |
| 21.6.6. Вместе со своей генетической информацией сперматозоид вносит в яйцеклетку центриоли | 1987 |
| 21.6.7. Методы ЭКО (IVF) и ИКСИ (ICSI) произвели революцию в лечении бесплодия у человека | 1989 |
| <i>Заключение</i> | 1992 |
| <i>Литература</i> | 1992 |
| Глава 22. Развитие многоклеточных организмов | 1995 |
| 22.1. Универсальные механизмы развития животных | 1996 |
| 22.1.1. Некоторые основные анатомические особенности, общие у всех животных | 1998 |
| 22.1.2. Многоклеточные животные наделены белками, опосредующими взаимодействие клеток и регуляцию генов | 1998 |
| 22.1.3. Программу развития организма предопределяет регуляторная ДНК | 2000 |
| 22.1.4. Манипуляции с зародышем раскрывают механизмы взаимодействия между его клетками | 2002 |
| 22.1.5. Исследования мутантных животных помогают идентифицировать гены, которые управляют процессами развития | 2003 |
| 22.1.6. Задолго до видимых изменений клетка принимает решения, связанные с развитием | 2004 |
| 22.1.7. Клетки запоминают позиционные значения, которые отражают их местоположение в теле | 2006 |
| 22.1.8. Индуктивные сигналы могут привести к появлению упорядоченных различий между первоначально идентичными клетками | 2007 |
| 22.1.9. При асимметричном делении клетки могут возникнуть отличающиеся друг от друга сестринские клетки | 2008 |
| 22.1.10. Положительная обратная связь способна вызвать асимметрию там, где ее раньше не было | 2008 |
| 22.1.11. Положительная обратная связь создает структуры организма, обеспечивает ответ «всё или ничего» и клеточную память | 2011 |
| 22.1.12. Программами развития управляет небольшой набор многократно используемых сигнальных путей | 2012 |

| | | |
|----------|---|------|
| 22.1.13. | Морфогены — индукторы дальнего действия, которые обеспечивают градуальный эффект | 2012 |
| 22.1.14. | Внеклеточные ингибиторы сигнальных молекул формируют ответ на индуктор | 2013 |
| 22.1.15. | Сигналы к развитию могут распространяться через ткань несколькими различными путями | 2014 |
| 22.1.16. | Часто хронологию развития клетки определяют заложенные в нее программы | 2016 |
| 22.1.17. | Исходные структуры закладываются в небольших ареалах клеток, а затем, по мере того как зародыш растет, уточняются за счет последовательной индукции | 2017 |
| | <i>Заключение</i> | 2018 |
| 22.2. | <i>Caenorhabditis elegans</i> : развитие с точки зрения отдельной клетки..... | 2019 |
| 22.2.1. | В анатомическом отношении <i>Caenorhabditis elegans</i> довольно прост | 2019 |
| 22.2.2. | Судьба каждой клетки развивающейся нематоды предсказуема | 2020 |
| 22.2.3. | Асимметричное деление яйца обеспечивается продуктами генов материнского эффекта | 2021 |
| 22.2.4. | За счет межклеточных взаимодействий создаются последовательно усложняющиеся структуры организма..... | 2023 |
| 22.2.5. | Микрохирургия и генетика раскрывают логику контроля развития, клонирование и секвенирование генов — его молекулярные механизмы | 2024 |
| 22.2.6. | Со временем способность клеток реагировать на связанные с развитием сигналы изменяется..... | 2025 |
| 22.2.7. | Гетерохронные гены управляют временным режимом развития | 2026 |
| 22.2.8. | Клетки не отсчитывают число клеточных делений и, следовательно, не хронометрируют свои внутренние программы таким способом..... | 2028 |
| 22.2.9. | Избирательная гибель определенных клеток путем апоптоза входит в программу развития организма | 2028 |
| | <i>Заключение</i> | 2029 |
| 22.3. | Дрозофила и молекулярная генетика образования тканевых структур: формирование общего плана строения тела..... | 2030 |
| 22.3.1. | Тело насекомого построено в виде ряда сегментных единиц | 2031 |
| 22.3.2. | Дрозофила начинает свое развитие с синцития | 2033 |
| 22.3.3. | Генетические исследования дают возможность установить группы генов, востребованные для особых моментов начального формирования организма | 2035 |
| 22.3.4. | Взаимодействие ооцита с окружающей его средой определяет оси зародыша: роль генов полярности яйца | 2036 |
| 22.3.5. | Дорсо-вентральные сигнальные гены создают градиент ядерного регуляторного белка..... | 2039 |
| 22.3.6. | Установленный белками <i>Dpp</i> и <i>Sog</i> вторичный градиент морфогена детализируют формирование дорсальной части зародыша | 2040 |
| 22.3.7. | Дорсо-вентральная ось насекомого соответствует вентро-дорсальной оси позвоночного | 2042 |
| 22.3.8. | Гены сегментации трех классов детализируют материнское передне-заднее разбиение и подразделяют зародыш на сегменты..... | 2042 |
| 22.3.9. | Локализованная экспрессия генов сегментации регулируется иерархией позиционных сигналов..... | 2044 |
| 22.3.10. | Модульная организация регуляторной ДНК позволяет генам выполнять многочисленные и независимо контролируемые функции..... | 2046 |
| 22.3.11. | Гены полярности яйца, <i>gap</i> гены и гены <i>pair rule</i> создают временную картину экспрессии, запоминаемую другими генами | 2048 |

| | | |
|----------|---|------|
| | <i>Заключение</i> | 2049 |
| 22.4. | Гомеозисные селекторные гены и формирование передне-задней оси..... | 2050 |
| 22.4.1. | Комплекс <i>Нох</i> определяет различия в передне-задней оси..... | 2051 |
| 22.4.2. | Гомеозисные селекторные гены кодируют ДНК-связывающие белки, которые взаимодействуют с другими регуляторными белками..... | 2052 |
| 22.4.3. | Гомеозисные селекторные гены экспрессируются последовательно согласно порядку их следования в комплексе <i>Нох</i> | 2053 |
| 22.4.4. | Комплекс <i>Нох</i> несет в себе неизменную запись позиционной информации | 2054 |
| 22.4.5. | У позвоночных животных передне-задняя ось тоже управляется селекторными генами <i>Нох</i> | 2054 |
| | <i>Заключение</i> | 2057 |
| 22.5. | Органогенез и структурирование конечностей и придатков | 2059 |
| 22.5.1. | Условные и индуцированные соматические мутации позволяют анализировать функции генов на поздних стадиях развития организма | 2059 |
| 22.5.2. | Части тела взрослой мухи развиваются из имагинальных дисков..... | 2062 |
| 22.5.3. | Гомеозисные селекторные гены необходимы для хранения позиционной информации в клетках имагинальных дисков | 2062 |
| 22.5.4. | Специфические регуляторные гены определяют те клетки, которые сформируют придаток | 2064 |
| 22.5.5. | Диск крыла насекомого разделен на компартменты..... | 2065 |
| 22.5.6. | Диск крыла формируется объединенными усилиями четырех уже знакомых нам путей передачи сигналов: <i>Wingless</i> , <i>Hedgehog</i> , <i>Dpp</i> и <i>Notch</i> | 2066 |
| 22.5.7. | Размер каждого компартмента регулируется взаимодействиями между его клетками | 2067 |
| 22.5.8. | У всех позвоночных построение плана конечностей осуществляется сходными механизмами | 2070 |
| 22.5.9. | Локализованная экспрессия регулирующих гены белков определенных классов предшествует дифференцировке клеток | 2071 |
| 22.5.10. | Латеральное ингибирование отбирает сенсорные материнские клетки из кластеров пронейральных клеток | 2073 |
| 22.5.11. | Латеральное ингибирование направляет потомство сенсорной материнской клетки к разным целям дифференцировки | 2075 |
| 22.5.12. | Плоскостная полярность асимметричных делений контролируется сигналом через <i>Frizzled</i> | 2076 |
| 22.5.13. | Асимметричное деление стволовых клеток генерирует дополнительные нейроны в центральной нервной системе..... | 2077 |
| 22.5.14. | Асимметричное деление нейробластов оставляет ингибитор клеточного деления только в одной из дочерних клеток | 2079 |
| 22.5.15. | Сигнальный путь <i>Notch</i> регулирует тонкие детали распределения дифференцированных клеток в самых разных тканях | 2081 |
| 22.5.16. | Некоторые ключевые регуляторные гены определяют тип клетки, другие могут активизировать программу создания целого органа | 2081 |
| | <i>Заключение</i> | 2082 |
| 22.6. | Перемещения клеток и формирование тела позвоночного животного..... | 2083 |
| 22.6.1. | Полярность зародыща земноводного зависит от полярности яйца | 2083 |
| 22.6.2. | При дроблении получается много клеток из одной | 2086 |
| 22.6.3. | Гастрюляция преобразует полый шар клеток в трехслойную структуру с примитивным кишечником | 2087 |
| 22.6.4. | Перемещения клеток при гастрюляции точно предсказуемы..... | 2088 |
| 22.6.5. | Механические процессы запускаются химическими сигналами | 2089 |

| | | |
|----------|--|------|
| 22.6.6. | Движущая сила гастрюляции обусловлена активными изменениями в упаковке клеток | 2092 |
| 22.6.7. | Изменение картины экспрессии молекул клеточной адгезии заставляет клетки принимать новые варианты взаимного расположения | 2094 |
| 22.6.8. | Хорда удлиняется, а нервная пластинка сворачивается и образует нервную трубку | 2095 |
| 22.6.9. | Синхронизирующий экспрессию генов осциллятор управляет сегментацией мезодермы на сомиты | 2095 |
| 22.6.10. | Запаздывающая отрицательная обратная связь способна генерировать тактовые колебания хронометра сегментации | 2099 |
| 22.6.11. | Ткани зародыша заполняются строго контролируемые видами мигрирующих клеток | 2099 |
| 22.6.12. | Распределение мигрирующих клеток зависит от факторов выживания, равно как и от управляющих сигналов | 2102 |
| 22.6.13. | Лево-правая асимметрия тела позвоночного животного обусловлена молекулярной асимметрией зародыша на ранних стадиях развития | 2104 |
| | <i>Заключение</i> | 2106 |
| 22.7. | Мышь | 2107 |
| 22.7.1. | Развитие млекопитающих начинается с особой стадии | 2108 |
| 22.7.2. | На ранних стадиях развития зародыш млекопитающего обладает способностью к авторегуляции | 2110 |
| 22.7.3. | Зародыш млекопитающих содержит тотипотентные эмбриональные стволовые клетки | 2111 |
| 22.7.4. | Взаимодействия между эпителием и мезенхимой приводят к образованию ветвящихся трубчатых структур | 2112 |
| | <i>Заключение</i> | 2114 |
| 22.8. | Развитие нервной системы | 2115 |
| 22.8.1. | Нейроны наделяются различными ролями, зависящими от времени и места их рождения | 2117 |
| 22.8.2. | От типа, назначенного нейрону при его рождении, зависит, какие связи он будет образовывать | 2118 |
| 22.8.3. | Каждый аксон или дендрит удлиняется посредством конуса роста на своем кончике | 2120 |
| 22.8.4. | Конус нарастания ведет развивающийся <i>in vivo</i> нейрит по точно заданному курсу | 2122 |
| 22.8.5. | Конусы нарастания обладают возможностью изменять свою чувствительность по мере прохождения избранного ими пути | 2125 |
| 22.8.6. | Ткани-мишени выделяют нейротрофические факторы, которые управляют ростом и выживанием нервных клеток | 2126 |
| 22.8.7. | Специфичность нейронов лежит в основе формирования упорядоченных нейронных карт | 2128 |
| 22.8.8. | Аксоны, идущие от разных областей сетчатки, по-разному реагируют на градиент концентрации отталкивающих молекул в зрительном бугре | 2130 |
| 22.8.9. | Диффузная конфигурация синаптических связей приобретает более резкие очертания за счет перестройки синапсов | 2132 |
| 22.8.10. | Опыт формирует в мозгу конфигурацию синаптических связей | 2134 |
| 22.8.11. | Память взрослой особи и перестройка синапсов в период развития, возможно, контролируются схожими механизмами | 2136 |
| | <i>Заключение</i> | 2137 |
| 22.9. | Развитие растений | 2138 |
| 22.9.1. | В качестве модельного организма для исследования молекулярной генетики растений обычно используется <i>Arabidopsis thaliana</i> | 2139 |

| | |
|---|-------------|
| 22.9.2. Геном <i>A. thaliana</i> богат генами, управляющими развитием растения | 2140 |
| 22.9.3. Развитие зародыша начинается с установления корне-побеговой оси и затем приостанавливается внутри семени | 2142 |
| 22.9.4. Меристемы последовательно формируют части растения | 2145 |
| 22.9.5. Развитие проростка зависит от внешних сигналов | 2148 |
| 22.9.6. Дальнодействующие гормональные сигналы координируют развитие событий в отдельных частях растения | 2148 |
| 22.9.7. Формирование каждой новой структуры зависит от ориентированного деления и роста клеток | 2149 |
| 22.9.8. Каждый модульный орган растения вырастает из микроскопического набора примордиев в меристеме | 2151 |
| 22.9.9. Схему взаимного расположения примордиев в меристеме задает поляризованный перенос ауксина | 2152 |
| 22.9.10. Передача сигналов между клетками поддерживает меристему | 2154 |
| 22.9.11. Мутации регуляторных генов могут влиять на топологию растения, изменив поведение клеток меристемы | 2156 |
| 22.9.12. Переключение с вегетативного роста на цветение зависит от прошлых и настоящих внешних сигналов | 2157 |
| 22.9.13. Род закладываемых частей цветка определяется гомеозисными селекторными генами | 2160 |
| <i>Заключение</i> | 2161 |
| <i>Литература</i> | 2163 |
| Глава 23. Специализированные ткани, столовые клетки и обновление тканей | 2168 |
| 23.1. Эпидермис и его обновление столовыми клетками | 2169 |
| 23.1.1. Клетки эпидермиса образуют многослойный водонепроницаемый барьер | 2169 |
| 23.1.2. В дифференцирующихся эпидермальных клетках по мере их созревания последовательно синтезируются различные кератины | 2171 |
| 23.1.3. Эпидермис обновляется за счет столовых клеток, залегающих в базальном слое | 2173 |
| 23.1.4. Клеткам, образовавшимся при делении столовой предшественницы, не всегда уготована разная участь | 2174 |
| 23.1.5. Базальный слой содержит как столовые клетки, так и транзиторные амплифицирующиеся клетки | 2175 |
| 23.1.6. Деление транзиторных амплифицирующихся клеток — часть стратегии управления ростом | 2177 |
| 23.1.7. Столовые клетки некоторых тканей избирательно сохраняют исходные цепи ДНК | 2179 |
| 23.1.8. Скорость деления столовых клеток может значительно возрасть, если организму срочно нужны новые клетки | 2180 |
| 23.1.9. Обновлением эпидермиса управляет множество взаимосвязанных сигналов | 2182 |
| 23.1.10. Молочная железа проходит циклы развития и регрессии | 2183 |
| <i>Заключение</i> | 2185 |
| 23.2. Нейроэпителий | 2186 |
| 23.2.1. Обонятельные нейроны постоянно заменяются | 2187 |
| 23.2.2. Слуховые волосковые клетки должны сохраняться на протяжении всей жизни организма | 2188 |
| 23.2.3. Наиболее долговечные клетки обновляют свои части: фоторецепторы сетчатки | 2191 |
| <i>Заключение</i> | 2192 |
| 23.3. Дыхательные пути и кишечник | 2193 |

| | | |
|----------|---|------|
| 23.3.1. | В альвеолах легких совместно работают клетки родственных типов . | 2194 |
| 23.3.2. | Для поддержания воздушных путей в чистоте необходима совместная работа бокаловидных клеток, реснитчатых клеток и макрофагов | 2196 |
| 23.3.3. | Выстилка тонкой кишки самообновляется быстрее, чем любая другая ткань | 2197 |
| 23.3.4. | Поддержанию популяции стволовых клеток кишечника способствует сигнальный путь Wnt..... | 2200 |
| 23.3.5. | Сигнальный путь Notch управляет разнообразием клеток кишечника..... | 2201 |
| 23.3.6. | Сигнальный путь эфрин–Eph управляет миграцией эпителиальных клеток кишечника | 2203 |
| 23.3.7. | Границы ниши стволовых клеток определяются совместным действием сигнальных путей Wnt, Hedgehog, PDGF и BMP..... | 2204 |
| 23.3.8. | Печень является связующим звеном между пищеварительным трактом и кровеносной системой..... | 2207 |
| 23.3.9. | Потеря клеток печени стимулирует пролиферацию оставшихся гепатоцитов | 2207 |
| 23.3.10. | Обновление ткани не зависит от стволовых клеток: клетки, вырабатывающие инсулин в поджелудочной железе | 2209 |
| | <i>Заключение</i> | 2211 |
| 23.4. | Кровеносные сосуды, лимфатические сосуды и клетки эндотелия..... | 2211 |
| 23.4.1. | Все кровеносные и лимфатические сосуды выстланы эндотелиальными клетками | 2212 |
| 23.4.2. | Эндотелиальные клетки окончаний кровеносных сосудов прокладывают дорогу для новых сосудов | 2214 |
| 23.4.3. | Из эндотелиальных клеток разного типа образуются сосуды разного вида | 2216 |
| 23.4.4. | Требующие кровоснабжения ткани высвобождают VEGF; отклик регулируется сигналами Notch между эндотелиальными клетками | 2216 |
| 23.4.5. | Сигналы от эндотелиальных клеток управляют привлечением перитцитов и клеток гладкой мускулатуры для образования стенки сосуда .. | 2219 |
| | <i>Заключение</i> | 2219 |
| 23.5. | Обновление мультипотентных стволовых клеток: образование клеток крови ... | 2220 |
| 23.5.1. | Три главные категории лейкоцитов: гранулоциты, моноциты и лимфоциты..... | 2221 |
| 23.5.2. | В костном мозге производство каждого типа клеток крови регулируется независимо от других..... | 2224 |
| 23.5.3. | Костный мозг содержит кроветворные стволовые клетки | 2225 |
| 23.5.4. | Все виды клеток крови происходят от мультипотентных стволовых клеток | 2228 |
| 23.5.5. | Выбор конечного состояния дифференцировки клетки определяется поэтапно | 2228 |
| 23.5.6. | Число специализированных клеток крови увеличивается за счет деления коммитированных клеток-предшественников | 2230 |
| 23.5.7. | Стволовые клетки зависят от контактных сигналов, исходящих от клеток стромы | 2230 |
| 23.5.8. | Факторы, регулирующие кроветворение, можно проанализировать в культуре клеток | 2232 |
| 23.5.9. | Эритропоэз зависит от гормона эритропоэтина | 2232 |
| 23.5.10. | Производство нейтрофилов и макрофагов регулируется многими колониестимулирующими факторами | 2233 |
| 23.5.11. | Поведение кроветворной клетки зависит от случайных событий..... | 2235 |

| | |
|---|-------------|
| 23.5.12. Регуляция выживания клеток столь же важна, как и регуляция их пролиферации | 2237 |
| <i>Заключение</i> | 2237 |
| 23.6. Происхождение, изменчивость и регенерация скелетных мышц | 2238 |
| 23.6.1. Волокна скелетных мышц образуются слиянием миобластов | 2239 |
| 23.6.2. Мышечные клетки способны изменять свои свойства посредством экспрессии генов, кодирующих изоформы одного и того же белка | 2240 |
| 23.6.3. Волокна скелетных мышц выделяют миостатин, с тем чтобы ограничить свой рост | 2241 |
| 23.6.4. Некоторые миобласты сохраняются во взрослом организме как покоящиеся стволовые клетки | 2242 |
| <i>Заключение</i> | 2244 |
| 23.7. Фибробласты и их превращения: семейство клеток соединительной ткани | 2244 |
| 23.7.1. Фибробласты изменяют свой характер в ответ на химические сигналы | 2245 |
| 23.7.2. Внеклеточный матрикс может влиять на дифференцировку клеток соединительной ткани, изменяя форму клеток и способность к прикреплению | 2246 |
| 23.7.3. Остеобласты выделяют костный матрикс | 2247 |
| 23.7.4. Кости большинства типов построены на основе хрящевых моделей | 2248 |
| 23.7.5. Кость непрерывно перестраивается находящимися в ней клетками | 2251 |
| 23.7.6. Остеокласты управляются сигналами, исходящими от остеобластов | 2252 |
| 23.7.7. Жировые клетки могут развиваться из фибробластов | 2256 |
| 23.7.8. Лептин, выделяемый жировыми клетками, регулирует аппетит | 2256 |
| <i>Заключение</i> | 2259 |
| 23.8. Инженерия стволовых клеток | 2259 |
| 23.8.1. Кроветворные стволовые клетки могут быть использованы для замены больных клеток крови здоровыми | 2260 |
| 23.8.2. Для восстановления тканей подходят выращенные в культуре популяции стволовых клеток эпидермиса | 2260 |
| 23.8.3. Нейральными стволовыми клетками можно манипулировать в культуре | 2261 |
| 23.8.4. Нейральные стволовые клетки способны повторно заселить центральную нервную систему | 2263 |
| 23.8.5. Стволовые клетки взрослого организма ткане специфичны | 2263 |
| 23.8.6. Эмбриональные стволовые клетки можно использовать для «изготовления» любой части тела | 2264 |
| 23.8.7. Пациент-специфичные ES клетки могут решить проблему иммунного отторжения | 2266 |
| 23.8.8. ES клетки можно использовать для поиска лекарственных препаратов и изучения причин болезни | 2267 |
| <i>Заключение</i> | 2268 |
| <i>Литература</i> | 2269 |
| Глава 24. Патогены, инфекция и врожденный иммунитет | 2274 |
| 24.1. Знакомство с патогенами | 2275 |
| 24.1.1. Патогены развили специфические механизмы для взаимодействия со своими хозяевами | 2275 |
| 24.1.2. Признаки и симптомы инфекции могут быть вызваны либо самим патогеном, либо иммунными реакциями хозяина | 2278 |
| 24.1.3. Патогены филогенетически разнообразны | 2280 |
| 24.1.4. У бактериальных патогенов есть специализированные гены вирулентности | 2281 |

| | | |
|----------|---|------|
| 24.1.5. | Паразиты, представленные грибами и простейшими, проходят сложные жизненные циклы, предполагающие смену многих форм..... | 2288 |
| 24.1.6. | На всех этапах своего размножения вирусы используют аппарат клетки хозяина..... | 2291 |
| 24.1.7. | Прионы — инфекционные белки..... | 2294 |
| 24.1.8. | Возбудители инфекционных болезней имеют отношение к раку, заболеваниям сердца и другим хроническим заболеваниям..... | 2298 |
| | <i>Заключение</i> | 2300 |
| 24.2. | Клеточная биология инфекционных процессов..... | 2300 |
| 24.2.1. | Чтобы колонизировать организм хозяина, патогены должны преодолеть защитные барьеры..... | 2301 |
| 24.2.2. | Патогенам, колонизирующим эпителий, необходимо избежать устранения хозяином..... | 2303 |
| 24.2.3. | Внутриклеточные патогены обеспечены механизмами и проникновения в клетки хозяина, и выхода из них..... | 2305 |
| 24.2.4. | Вирусные частицы связываются с определенными молекулами на поверхности клетки-хозяина..... | 2307 |
| 24.2.5. | Вирионы проникают в клетки путем слияния мембран, образования пор или же разрыва мембраны..... | 2308 |
| 24.2.6. | Бактерии проникают в клетки хозяина посредством фагоцитоза..... | 2310 |
| 24.2.7. | Внутриклеточные паразиты эукариотического происхождения активно вторгаются в клетки хозяина..... | 2312 |
| 24.2.8. | Многие патогены вносят изменения в мембранный транспорт клетки-хозяина..... | 2316 |
| 24.2.9. | Вирусы и бактерии для передвижения внутри клетки используют цитоскелет клетки хозяина..... | 2322 |
| 24.2.10. | Вирусы принимают на себя управление метаболизмом клетки-хозяина..... | 2326 |
| 24.2.11. | Патогены могут изменять поведение хозяина, с тем чтобы облегчить свое распространение..... | 2327 |
| 24.2.12. | Патогены быстро эволюционируют..... | 2328 |
| 24.2.13. | Изменчивость антигенов у патогенов опосредована многими механизмами..... | 2329 |
| 24.2.14. | Основная движущая сила эволюции вирусов — ошибки репликации..... | 2331 |
| 24.2.15. | Нарастающая проблема — лекарственная устойчивость патогенов.. | 2334 |
| | <i>Заключение</i> | 2338 |
| 24.3. | Барьеры против инфекции и система врожденного иммунитета..... | 2338 |
| 24.3.1. | Эпителиальные поверхности и дефенсины помогают предотвратить заражение..... | 2339 |
| 24.3.2. | Клетки человека распознают консервативные признаки патогенов... .. | 2341 |
| 24.3.3. | Активация комплемента делает патоген мишенью для фагоцитоза или лизиса..... | 2343 |
| 24.3.4. | Toll-подобные белки и белки NOD — древнейшее семейство паттерн-распознающих рецепторов..... | 2346 |
| 24.3.5. | Фагоцитирующие клетки отыскивают, поглощают и уничтожают патогены..... | 2348 |
| 24.3.6. | Активированные макрофаги участвуют в развитии воспалительной реакции в очагах заражения..... | 2350 |
| 24.3.7. | Зараженные вирусом клетки принимают решительные меры, чтобы предотвратить его репликацию..... | 2353 |
| 24.3.8. | Натуральные киллеры побуждают зараженные вирусом клетки к самоуничтожению..... | 2354 |

| | |
|---|-------------|
| 24.3.9. Дендритные клетки обеспечивают связь между системами врожденного и приобретенного иммунитета | 2356 |
| <i>Заключение</i> | 2357 |
| <i>Литература</i> | 2357 |
| Глава 25. Система приобретенного иммунитета | 2361 |
| 25.1. Лимфоциты и клеточные основы приобретенного иммунитета | 2363 |
| 25.1.1. Лимфоциты необходимы для работы системы приобретенного иммунитета | 2364 |
| 25.1.2. Системы врожденного и приобретенного иммунитета работают совместно | 2365 |
| 25.1.3. В-лимфоциты созревают в костном мозге; Т-лимфоциты созревают в тимусе | 2366 |
| 25.1.4. Система приобретенного иммунитета работает по методу клональной селекции | 2369 |
| 25.1.5. Большинство антигенов активирует много | 2371 |
| 25.1.6. Иммунологическая память существует благодаря клональной экспансии и дифференцировке лимфоцитов | 2371 |
| 25.1.7. Иммунологическая толерантность гарантирует неприкосновенность «своих» антигенов | 2373 |
| 25.1.8. Лимфоциты постоянно циркулируют в периферических лимфоидных органах | 2377 |
| <i>Заключение</i> | 2380 |
| 25.2. В-клетки и антитела | 2381 |
| 25.2.1. В-клетки вырабатывают антитела как в виде антигенных рецепторов на клеточной поверхности, так и в виде секретируемых белков | 2382 |
| 25.2.2. Типичное антитело имеет два идентичных сайта связывания антигена | 2383 |
| 25.2.3. Молекула антитела состоит из тяжелых и легких цепей | 2384 |
| 25.2.4. Существует пять классов тяжелых цепей антител с присущими им характерными биологическими свойствами | 2384 |
| 25.2.5. Сила взаимодействия антитела с антигеном зависит как от числа, так и от сродства участков связывания антигена | 2391 |
| 25.2.6. Легкие и тяжелые цепи антител состоят из константных и вариабельных областей | 2392 |
| 25.2.7. Легкие и тяжелые цепи состоят из повторяющихся Ig-доменов | 2393 |
| 25.2.8. Участок связывания антигена построен из гипервариабельных петель | 2395 |
| <i>Заключение</i> | 2397 |
| 25.3. Происхождение разнообразия антител | 2398 |
| 25.3.1. В процессе развития В-клеток происходит сборка генов антител из отдельных генных сегментов | 2399 |
| 25.3.2. Неточное соединение генных сегментов существенно увеличивает разнообразие V-областей | 2401 |
| 25.3.3. Контроль V(D)J-рекомбинации гарантирует моноспецифичность В-клеток | 2403 |
| 25.3.4. Антигензависимое соматическое гипермутирование осуществляет тонкую настройку гуморального ответа | 2405 |
| 25.3.5. В-клетки имеют возможность переключаться с выработки одного класса антител на выработку другого | 2407 |
| <i>Заключение</i> | 2409 |
| 25.4. Т-клетки и белки МНС | 2410 |

| | |
|--|-------------|
| 25.4.1. Т-клеточные рецепторы (TCR) представляют собой антителоподобные гетеродимеры..... | 2411 |
| 25.4.2. Презентация антигена дендритными клетками может либо активировать Т-клетки, либо вызвать их толерантность..... | 2413 |
| 25.4.3. Эффекторные цитотоксические Т-клетки побуждают зараженные клетки-мишени убивать самих себя..... | 2415 |
| 25.4.4. Эффекторные Т-хелперы помогают активировать прочие клетки систем врожденного и приобретенного иммунитета..... | 2416 |
| 25.4.5. Регуляторные Т-клетки подавляют активность других Т-клеток..... | 2418 |
| 25.4.6. Т-клетки опознают чужеродные пептиды, связанные с белками МНС..... | 2419 |
| 25.4.7. Белки МНС были обнаружены в ходе изучения реакций отторжения трансплантата, а их функции стали известны позднее..... | 2420 |
| 25.4.8. Белки МНС I и II классов — структурно подобные гетеродимеры .. | 2421 |
| 25.4.9. Белки МНС связывают пептиды и взаимодействуют с Т-клеточными рецепторами..... | 2423 |
| 25.4.10. Белки МНС помогают направлять Т-клетки к соответствующим мишеням..... | 2426 |
| 25.4.11. Корцепторы CD4 и CD8 связываются с инвариантными частями белков МНС..... | 2427 |
| 25.4.12. Цитотоксические Т-клетки узнают фрагменты чужеродных цитозольных белков, связанные с белками МНС I класса..... | 2429 |
| 25.4.13. Т-хелперы узнают связанные с белками МНС II класса фрагменты подвергнутого эндоцитозу чужеродного белка..... | 2432 |
| 25.4.14. Потенциально полезные Т-клетки отбираются в тимусе..... | 2434 |
| 25.4.15. Большинство развивающихся цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов, способных к активации комплексами собственных МНС-пептидов, уничтожается в тимусе..... | 2436 |
| 25.4.16. Некоторые органспецифичные белки эктопически экспрессируются в медуллярной зоне тимуса..... | 2437 |
| 25.4.17. Функция белков МНС объясняет присущий им полиморфизм..... | 2439 |
| <i>Заключение</i> | 2440 |
| 25.5. Т-хелперы и активация лимфоцитов..... | 2441 |
| 25.5.1. Активированные дендритные клетки используют множество механизмов для активации Т-клеток..... | 2441 |
| 25.5.2. Активация Т-клеток находится под контролем отрицательной обратной связи..... | 2444 |
| 25.5.3. Подкласс эффекторного Т-хелпера определяет характер приобретенного иммунного ответа..... | 2446 |
| 25.5.4. T _H 1-клетки активируют зараженные макрофаги и стимулируют воспалительный ответ..... | 2447 |
| 25.5.5. Связывание антигена с В-клеточными рецепторами (BCR) — только один из этапов пути активации В-клеток..... | 2450 |
| 25.5.6. Антигенспецифичные Т-хелперы необходимы для активации большинства В-клеток..... | 2452 |
| 25.5.7. Особый класс В-клеток опознает Т-независимые антигены..... | 2454 |
| 25.5.8. Молекулы, участвующие в иммунном узнавании, принадлежат к древнему суперсемейству Ig..... | 2456 |
| <i>Заключение</i> | 2458 |
| <i>Литература</i> | 2458 |
| Словарь терминов..... | 2462 |

| | |
|----------------------------|-------------|
| Предметный указатель | 2574 |
| Благодарности | 2576 |

Дополнительный иллюстративный материал

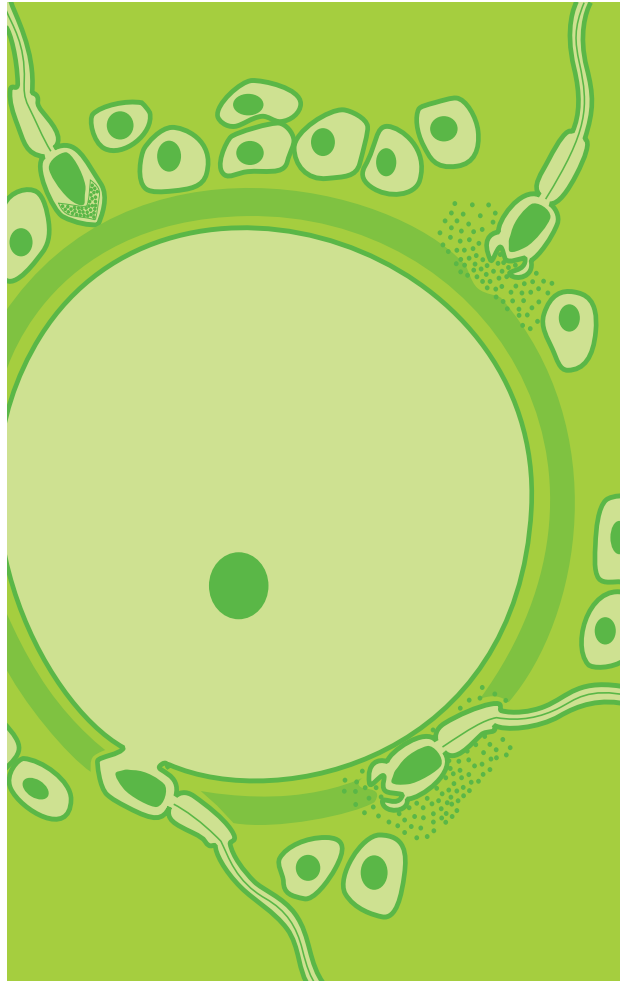
- Таблица 19.1. Функциональная классификация клеточных контактов. Стр. 1741
- Таблица 19.2. Прикрепляющие контакты. Стр. 1744
- Таблица 19.3. Некоторые представители суперсемейства кадгеринов. Стр. 1748
- Таблица 19.4. Некоторые типы интегринов. Стр. 1800
- Таблица 19.5. Семейства молекул клеточной адгезии. Стр. 1806
- Таблица 19.6. Некоторые распространенные протеогликаны. Стр. 1816
- Таблица 19.7. Некоторые типы коллагена и их свойства. Стр. 1818
- Таблица 19.8. Полимеры клеточной стенки растений. Стр. 1837
- Таблица 20.1. Онкогенные вирусы человека. Стр. 1881
- Таблица 20.2. Некоторые генетические аномалии, обнаруженные в раковых опухолях толстой и прямой кишки. Стр. 1917
- Таблица 22.1. Некоторые сигнальные белки, неоднократно используемые в качестве индукторов в ходе развития животных. Стр. 2012
- Таблица 22.2. Некоторые из основных семейств регуляторных белков у арабидопсиса, дрозофилы, нематоды и дрожжей. Стр. 2142
- Приложение 22.1. Особенности развития цветковых растений на ранних его стадиях. Стр. 2144
- Приложение 22.2. Основные типы клеток и тканей, из которых построены высшие растения. Стр. 2146–2147
- Таблица 23.1. Клетки крови. Стр. 2223
- Таблица 23.2. Некоторые колониестимулирующие факторы (CSF), влияющие на образование клеток крови. Стр. 2234
- Таблица 25.1. Свойства основных классов антител человека. Стр. 2390
- Таблица 25.2. Свойства белков человека МНС I и II классов у человека. Стр. 2427
- Таблица 25.3. Некоторые вспомогательные белки на поверхности Т-клеток. Стр. 2445
- Таблица 25.4. Свойства некоторых цитокинов. Стр. 2456

ЧАСТЬ V

КЛЕТКИ В КОНТЕКСТЕ ИХ СОВОКУПНОСТИ

Главы

- 19. Клеточные контакты, адгезия и внеклеточный матрикс
- 20. Рак
- 21. Половое размножение: мейоз, половые клетки и оплодотворение
- 22. Развитие многоклеточных организмов
- 23. Специализированные ткани, стволовые клетки и обновление тканей
- 24. Патогены, инфекция и врожденный иммунитет
- 25. Система приобретенного иммунитета



Клеточные контакты, адгезия и внеклеточный матрикс

Из всех типов взаимодействий клеток в многоклеточном организме наиболее фундаментальными являются взаимодействия, удерживающие клетки вместе. Клетки могут присоединяться друг к другу посредством прямых межклеточных контактов либо устанавливать механическую связь с помощью выделяемых ими веществ; так или иначе в целостном многоклеточном организме они должны быть связаны между собой.

Механизмы когезии определяют архитектуру тела — его форму, механические свойства и распределение клеток различных типов. Соединения между клетками образуют пути сообщения, позволяя клеткам обмениваться сигналами, координирующими их поведение и регулирующими экспрессию генов. Прикрепление к соседним клеткам и к внеклеточному матриксу влияет на ориентацию внутренних структур клетки. Установление и разрыв контактов, модификация матрикса участвуют в миграции клеток внутри развивающегося организма и направляют их движение при репарационных процессах. Таким образом, система клеточных контактов, механизмов клеточной адгезии и внеклеточного матрикса играет принципиальную роль во всех проявлениях организации, функционирования и динамики многоклеточных организмов. В нарушениях этой системы коренятся многие заболевания.

Более всего поражают воображение большие многоклеточные организмы, поистине шедевры структурной инженерии. Ведь клетки — это маленькие, хрупкие и часто подвижные объекты, заполненные водной внутренней средой и окруженные тонкой плазматической мембраной; однако миллионы таких объектов могут образовать структуру столь массивную, столь прочную и столь устойчивую, как например, лошадь или дерево. Как же это возможно?

Как мы увидим в главе 23, ткани животных необычайно разнообразны, но большинство из них принадлежит к одной из двух больших категорий, соответствующих двум архитектурным типам (рис. 19.1). В **соединительных тканях**, таких как кость или сухожилие, внеклеточный матрикс хорошо выражен, а распределенные в нем клетки немногочисленны. Матрикс богат волокнистыми полимерами, особенно *коллагеном*, и именно матрикс, а не клетки, принимает на себя большую часть механической нагрузки. Прямые контакты между двумя клетками относительно редки, однако у клеток есть важная связь с матриксом, что позволяет им натягивать его и самим растягиваться под воздействием внеклеточной среды.

Клетки **эпителиальных тканей**, таких как выстилка кишечника или эпидермальный покров кожи, напротив, тесно связаны друг с другом и формируют пласты, называемые **эпителием**. Внеклеточного матрикса мало, он представлен в основном тонкой пластинкой, называемой базальной мембраной, с одной стороны подсти-

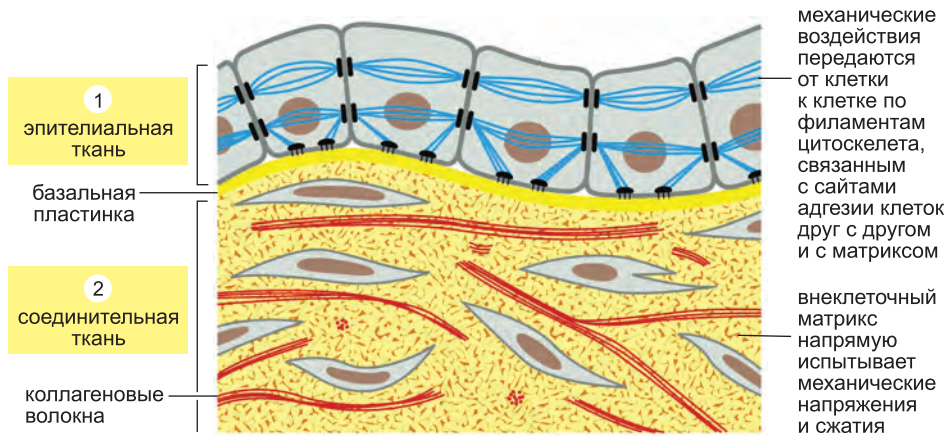


Рис. 19.1. Два основных способа прикрепления животных клеток друг к другу. В соединительных тканях сопротивление механическим воздействиям оказывает в основном внеклеточный матрикс. Однако в эпителиальной ткани эту функцию выполняют цитоскелеты самих клеток, связанные в единую сеть прикрепляющими контактами. Контакты клеток и матрикса скрепляют эпителиальную ткань с соединительной тканью, лежащей под ней.

лающей пласт. В составе эпителия клетки прикреплены друг к другу напрямую посредством межклеточных адгезионных контактов, на которых закорены филаменты цитоскелета, которые передают механическую нагрузку через внутренность клетки от одного сайта адгезии до другого.

Физические контакты играют принципиальную роль, как в эпителии, так и в неэпителиальных тканях, однако соединения клеток друг с другом или с внеклеточным матриксом очень разнообразны по структуре, а их функции не исчерпываются одной лишь передачей механических взаимодействий. Можно выделить четыре основных функции; каждая из них имеет свою молекулярную основу (рис. 19.2 и таблица 19.1):

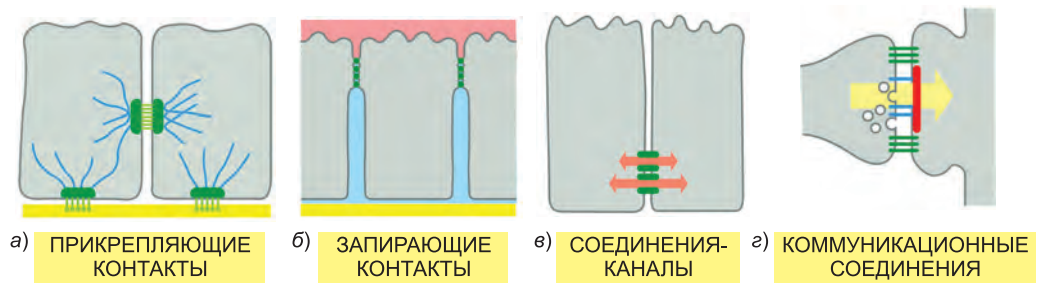


Рис. 19.2. Четыре функциональных типа клеточных контактов в тканях животных. а) Прикрепляющие контакты связывают клетку с клеткой (как правило, с помощью трансмембранных белков *кадгеринов*) или клетку с матриксом (обычно с помощью трансмембранных белков *интегринов*). б) Запирающие соединения (в которых участвуют белки *клаудины*) герметизируют пространство между эпителиальными клетками. в) Контакты, формирующие канал (составленные из белков *коннексинов* и *иннексинов*), образуют пути, по которым из клетки в клетку могут проходить небольшие молекулы и ионы. г) Коммуникационные соединения представляют собой сложные структуры; как правило, среди них — якорные белки, а также белки, участвующие в передаче сигнала.

Таблица 19.1. Функциональная классификация клеточных контактов

| ПРИКРЕПЛЯЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ |
|--|
| <i>Точки прикрепления актиновых филаментов</i> |
| 1. Межклеточные (адгезионные) контакты |
| 2. Контакты клетки и матрикса |
| <i>Точки прикрепления промежуточных филаментов</i> |
| 1. Межклеточные контакты (десмосомы) |
| 2. Контакты клетки и матрикса (полудесмосомы) |
| ЗАПИРАЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ |
| 1. Плотные контакты (у позвоночных) |
| 2. Септированные контакты (у беспозвоночных) |
| КАНАЛООБРАЗУЮЩИЕ СОЕДИНЕНИЯ |
| 1. Щелевые контакты (у животных) |
| 2. Плазмодесмы (у растений) |
| КОММУНИКАЦИОННЫЕ СОЕДИНЕНИЯ |
| 1. Химические синапсы (в нервной системе) |
| 2. Иммунные синапсы (в иммунной системе) |
| 3. Передача сигнала между клетками через взаимодействие лиганда с рецептором (Delta-Notch, ephrin-Eph и т.п.). Прикрепляющие, запирающие и каналобразующие соединения, помимо структурной роли, могут выполнять еще и сигнальную функцию |

1. **Прикрепительные контакты**, включая как межклеточные соединения, так и соединения клеток с матриксом, передают напряжения через внутриклеточную связь с филаментами цитоскелета;

2. **Запирающие соединения** герметизируют зазоры между клетками эпителия, превращая пласт клеток в непроницаемый (или полупроницаемый) барьер;

3. **Каналообразующие соединения** формируют туннели, соединяющие цитоплазмы соседних клеток;

4. **Коммуникационные соединения** позволяют передавать сигналы от клетки к клетке через их плазматические мембраны в точках межклеточного контакта.

Химические синапсы в нервной системе (см. главу 11) и иммунные синапсы, опосредующие взаимодействие Т-лимфоцитов с антиген-представляющими клетками (см. главу 25), являют собой наиболее яркие примеры коммуникационных соединений, но они — не единственные в своем роде. Примеры межклеточных коммуникаций через пары «лиганд–рецептор», такие как Delta и Notch либо эфрины и Eph-рецепторы, которые уже обсуждались в главе 15, относятся сюда же: для того чтобы лиганды могли активировать рецепторы, мембраны клеток должны соприкоснуться. Более того, мы увидим, что прикрепительные контакты, запирающие соединения и каналобразующие соединения играют, так или иначе, важную роль в передаче сигнала.

В первой части этой главы мы заострим свое внимание на клетках и тканях животных, обсудив сначала межклеточные адгезионные контакты, замыкающие соединения и каналобразующие соединения, которые напрямую связывают клетку с клеткой. В качестве примера коммуникационного соединения мы кратко опишем межнейронные синапсы с точки зрения механизмов межклеточной адгезии и процессов образования синаптического контакта. Мы увидим, как клетки, используя контакты различных типов, объединяются в ориентированные эпителиальные пласты. Затем мы обсудим внеклеточный матрикс у животных и роль контактов

между клеткой и матриксом во взаимодействии между ними. Наконец, мы обратимся к растениям и той центральной роли, которую играет в их построении клеточная стенка.

19.1. Кадгерины и межклеточные адгезионные контакты

Устройство **межклеточных контактов** наиболее ясно прослеживается в зрелом эпителии и в некоторых других тканях, клетки которых прочно сцеплены друг с другом, например, в сердечной мышце. Исследование этих тканей с помощью электронной микроскопии впервые позволило провести общую классификацию адгезионных контактов. С того времени биохимиками и молекулярными биологами показано, что разные структуры, различимые в электронный микроскоп, соответствуют различным молекулярным системам, которые выполняют важную роль не только в эпителии взрослого, но также и в других тканях, где назначение контакта не столь очевидно.

На **рис. 19.3** схематично показаны типы соединений, различимые в электронный микроскоп на срезе зрелого эпителия, а также показано, как межклеточные (а именно прикрепительные) контакты, которые нас сейчас интересуют, располагаются

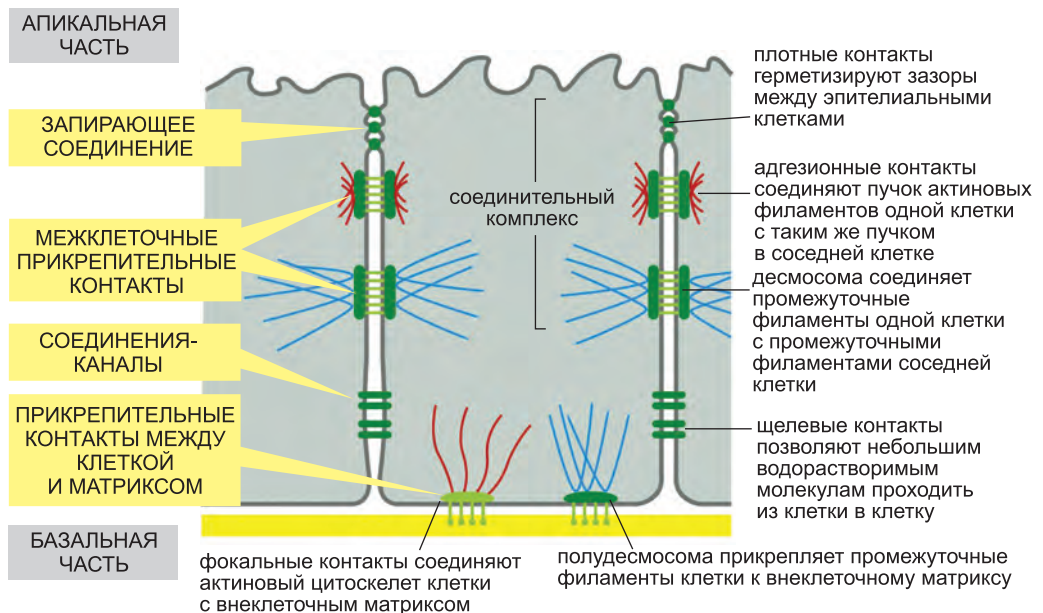


Рис. 19.3. Схематическое изображение различных клеточных контактов, обнаруженных в эпителиальных клетках позвоночных, согласно классификации по их первичной функции. В апикальной области клетки контакты расположены друг относительно друга примерно одинаково почти во всех эпителиях позвоночного. Плотные контакты занимают самое апикальное положение, за ними следуют адгезионные контакты (адгезионный пояс), а затем идет особый параллельный ряд десмосом; все эти контакты формируют структуру, называемую соединительным комплексом. Щелевые контакты и дополнительные десмосомы расположены не столь регулярно. Рисунок сделан на основе препаратов эпителиальных клеток тонкой кишки. Специализированные коммуникационные соединения обсуждаются в этой главе далее.

относительно соединений других типов, которые мы обсудим ниже. На диаграмме отображено типичное распределение в *однослойном призматическом* эпителии, таком как выстилка тонкого кишечника у позвоночных. В подобной ткани единичный слой вытянутых клеток подстилает базальная мембрана, а самая удаленная от этой мембраны поверхность клеток, или *апекс*, свободна и контактирует с внеклеточной средой. По бокам (на *латеральных* поверхностях), клетки образуют межклеточные контакты. Ближе всего к апексу располагаются запирающие контакты (известные как *плотные контакты* у позвоночных), не позволяя молекулам просачиваться через эпителий по межклеточному пространству. Ниже находится еще два типа межклеточных соединений. **Адгезионные контакты** представляют собой точки прикрепления актиновых филаментов; **десмосомы** — точки прикрепления промежуточных филаментов. Еще ниже, часто наряду с дополнительными десмосомами, находятся каналообразующие соединения, называемые щелевыми контактами.

Дополнительный набор сайтов адгезии прикрепляет эпителиальные клетки к базальной мембране; мы обсудим его в одном из следующих разделов. Мы будем классифицировать эти соединения клеток с матриксом подобно межклеточным соединениям, основываясь на их связи с цитоскелетом: *фокальные контакты* (в тонком кишечнике неразличимые, но хорошо выраженные в других тканях) прикрепляют к матриксу актиновые филаменты, а *полудесмосомы* — промежуточные.

В любом из четырех типов прикрепляющих соединений центральную роль играют **трансмембранные белки адгезии**, пронизывающие мембрану, один конец которых связан внутри клетки с ее цитоскелетом, а другой — с некоторой структурой вне ее (**рис. 19.4**). Эти связанные с цитоскелетом трансмембранные молекулы четко подразделяются на два суперсемейства, сообразно двум основным типам прикрепления (**таблица 19.2**). Белки суперсемейства **кадгеринов** по большей части опосредуют межклеточные контакты. Белки суперсемейства **интегринов** в основном участвуют в прикреплении клеток к матриксу. Внутри каждого семейства существует специализация: некоторые кадгерины связаны с актином и формируют адгезионные соединения, а другие связываются с промежуточными филаментами и образуют десмосомы; подобно этому некоторые интегрины связываются с актином, образуя актин-зависимые соединения клетки с матриксом, в то время как другие связаны с промежуточными филаментами и формируют полудесмосомы.

Из этого правила есть несколько исключений. Некоторые интегрины, к примеру, опосредуют межклеточные

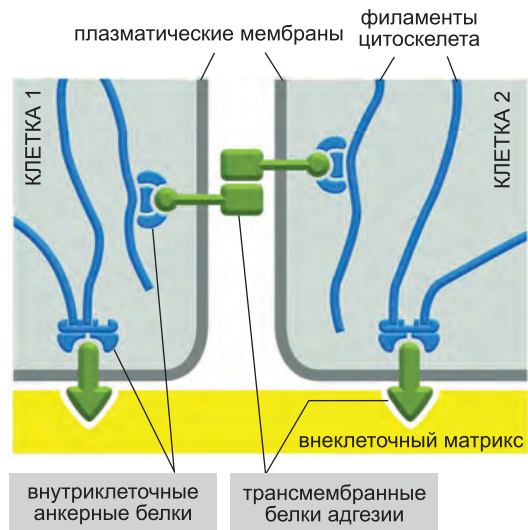


Рис. 19.4. Трансмембранные белки адгезии связывают цитоскелет с внеклеточными структурами. Внешняя связь может осуществляться с другой клеткой (прикрепление клетки к клетке, опосредованное, как правило, кадгеринами) или с внеклеточным матриксом (прикрепление клетки к матриксу, опосредованное, как правило, интегринами). Внутренняя связь с цитоскелетом обычно непрямая и осуществляется через якорные белки, см. далее.

Таблица 19.2. Прикрепляющие контакты

| СОЕДИНЕНИЕ | ТРАНСМЕМБРАННЫЙ БЕЛОК АДГЕЗИИ | ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ ЛИГАНД | ПРИКРЕПЛЕНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ ФИЛАМЕНТОВ | ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ЯКОРНЫЕ БЕЛКИ |
|---------------------------------------|---|--|---|--|
| <i>Межклеточные контакты</i> | | | | |
| адгезионное соединение | кадгерин (классический) | кадгерин на смежной клетке | актиновые филаменты | α -катенин, β -катенин, плакоглобин (γ -катенин), p120-катенин, винкулин, α -актинин |
| десмосома | кадгерин (десмоглеин, десмоколлин) | десмоглеин и десмоколлин на смежной клетке | промежуточные филаменты | плакоглобин (γ -катенин), плакофилин, десмоплакин |
| <i>Контакты клетки и матрикса</i> | | | | |
| фокальные контакты клетки с матриксом | интегрин | белки внеклеточного матрикса | актиновые филаменты | талин, винкулин, α -актинин, филламин, паксиллин, киназа фокальных контактов (FAK) |
| полудесмосома | интегрин $\alpha\beta\gamma$, коллаген XVII типа (BP180) | белки внеклеточного матрикса | промежуточные филаменты | плектин, дистонин (BP230) |

контакты, а не прикрепление клетки к матриксу. Более того, существуют другие типы молекул адгезии, которые образуют менее прочные соединения, чем прикрепительные контакты, но в определенных условиях их достаточно для сцепления клеток. Как бы то ни было, межклеточные контакты, опосредованные кадгеринами, — это класс соединений, имеющий, по-видимому, наиболее фундаментальное значение; с них мы и начнем наше описание межклеточных контактов.

19.1.1. Кадгерини опосредуют Ca^{2+} -зависимую межклеточную адгезию у всех животных

Кадгерини имеются у всех многоклеточных животных, чьи геномы расшифрованы, а также у организмов другой известной группы, а именно у хоанофлагеллят. Эти создания могут существовать как свободноживущие одноклеточные организмы и как многоклеточные колонии и считаются представителями группы протистов, от которых произошли все животные. У других эукариот, включая грибы и растения, кадгерини отсутствуют, и их также нет у бактерий и архей. Стало быть, кадгерини являются неотъемлемой частью сущности животного.

Кадгерини получили свое название из-за того, что их функционирование зависит от ионов Ca^{2+} : удаление Ca^{2+} из внеклеточной среды приводит к тому, что контакты, опосредованные кадгеринами, становятся непрочными. Иногда, особенно в случае эмбриональных тканей, этого достаточно для того, чтобы клетки можно было легко разделить. В других случаях необходимо более жесткое воздействие, совмещающее удаление Ca^{2+} с обработкой какой-нибудь протеазой, например трипсином. Протеаза ослабляет дополнительные связи, в которых задействован внеклеточный матрикс или другие молекулы межклеточной адгезии, не зависящие от Ca^{2+} . В любом случае, когда разделенные таким образом клетки оказываются вновь в обыч-

ной культуральной среде, они, как правило, опять соединяются, реконструируя межклеточные контакты.

На межклеточной ассоциации этого типа основан один из первых методов, позволивших идентифицировать молекулы межклеточной адгезии. В этих экспериментах получили моноклональные антитела к интересующим клеткам и каждое антитело протестировали на способность предотвращать восстановление межклеточных контактов после принудительной диссоциации клеток. Некоторые антитела, связывающиеся с молекулами клеточной адгезии, оказывали такое блокирующее влияние. Эти антитела использовали для выделения соответствующих молекул адгезии.

Похоже, что практически все клетки позвоночных и, возможно, также и других животных вырабатывают, в зависимости от типа клетки, один или несколько белков из семейства кадгеринов. Имеется несколько независимых друг от друга доказательств того, что это основные молекулы клеточной адгезии, объединяющие клетки ранних эмбриональных тканей. К примеру, эмбриональные ткани в культуре распадаются, если их подвергнуть воздействию антител к кадгеринам, а если опосредованные кадгеринами контакты остаются нетронутыми, то обработка антителами к другим молекулам адгезии дает лишь небольшой эффект. В исследованиях зародышей мышей показана роль кадгеринов в раннем развитии эмбриона. Вплоть до восьмиклеточной стадии эмбриональные клетки очень слабо сцеплены друг с другом, при этом каждая имеет более или менее сферическую форму. Затем внезапно происходит процесс, называемый компактизацией, в результате которого клетки плотно упаковываются и соединяются друг с другом посредством межклеточных контактов, так что внешняя поверхность эмбриона становится более гладкой (рис. 19.5). Антитела к определенному кадгерину, а именно *E-кадгерину*, блокируют компактизацию, в то время как антитела, реагирующие с различными другими молекулами на поверхности этих клеток, не производят такого эффекта. Мутации, инактивирующие *E-кадгерин*, приводят к тому, что эмбрион распадается на части и погибает на ранних стадиях развития.

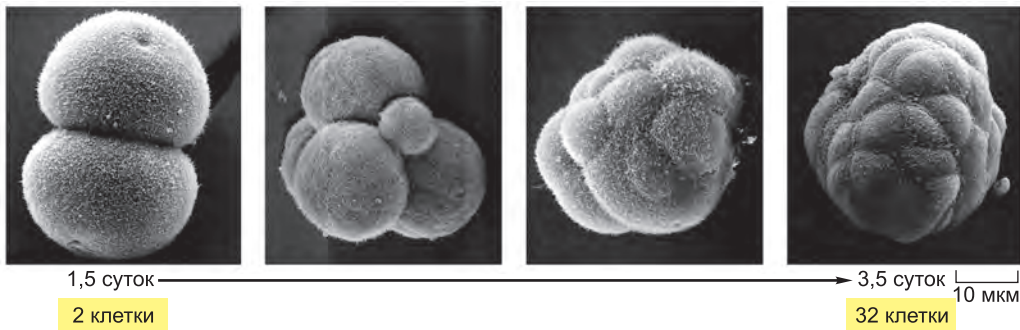


Рис. 19.5. Компактизация эмбриона мыши на ранних стадиях развития. Клетки эмбриона на ранних стадиях развития сначала лишь очень неплотно прилегают друг к другу. Примерно на восьмиклеточной стадии они начинают вырабатывать *E-кадгерин* и в результате становятся прочно и плотно скрепленными друг с другом. (Микрофотографии, сделанные методом сканирующей электронной микроскопии, любезно предоставлены Patricia Calarco; фотографии 16–32-клеточных стадий взяты из P. Calarco and C. J. Epstein, *Dev. Biol.* 32:208–213, 1973. С разрешения издательства Academic Press.)

19.1.2. Суперсемейство кадгеринов у позвоночных включает в себя сотни различных белков, в том числе многие сигнальные белки

Первые три открытых кадгерина названы согласно тому, в какой ткани они встречаются чаще всего: *E-кадгерин* обнаружен на поверхности клеток многих эпителиальных тканей; *N-кадгерин* — на поверхности нервных и мышечных клеток, а также клеток хрусталика; и, наконец, *P-кадгерин*, обнаруженный на поверхности клеток плаценты и эпидермиса. Все они также присутствуют и в других тканях; N-кадгерин, например, вырабатывается фибробластами, а E-кадгерин экспрессируется в некоторых частях мозга (рис. 19.6). Эти и другие **классические кадгеринины** имеют сходные последовательности внеклеточных и внутриклеточных доменов. Все они имеют определенные адгезивные функции, но, кроме того, они также очень важны для передачи сигнала. С помощью своих внутриклеточных доменов, как мы увидим позже, они передают информацию внутрь клетки, позволяя ей менять свое поведение в зависимости от того, прикреплена ли она к другим клеткам или нет.



Рис. 19.6. Разнообразие кадгеринов центральной нервной системы. На диаграмме показаны участки мозга мышинного эмбриона, в которых экспрессируются различные классические кадгеринины. Кроме них, в мозге вырабатывается еще 70 кадгеринов, классических и неклассических. Считается, что сложный характер их экспрессии отражает их роль в создании и поддержании структурной целостности этого сложно устроенного органа.

Помимо этого, существует много **неклассических кадгеринов**, чьи последовательности не столь похожи друг на друга, причем более 50 из них вырабатывается исключительно в клетках мозга. Неклассические кадгеринины включают в себя белки адгезии, например, различные *протокадгеринины*, обнаруженные в мозгу, а также *десмоколлины* и *десмоглеины*, которые формируют десмосомы. К ним также относятся белки, в первую очередь участвующие, как выяснилось, в передаче сигнала. Это, например, *T-кадгерин*, у которого нет трансмембранного домена и который прикрепляется к мембране нервных и мышечных клеток с помощью гликозилфосфатидилинозитольного (ГФИ-) якоря, и белки *Fat* и *Flamingo*, впервые идентифицированные как продукты генов дрозофилы, ответственных за рост эпителия и полярность клеток соответственно. Классические и неклассические кадгеринины составляют **суперсемейство кадгеринов** (рис. 19.7 и таблица 19.3), включающее более 180 белков человека. Но как структура этих белков соотносится с их функцией и почему их так много?

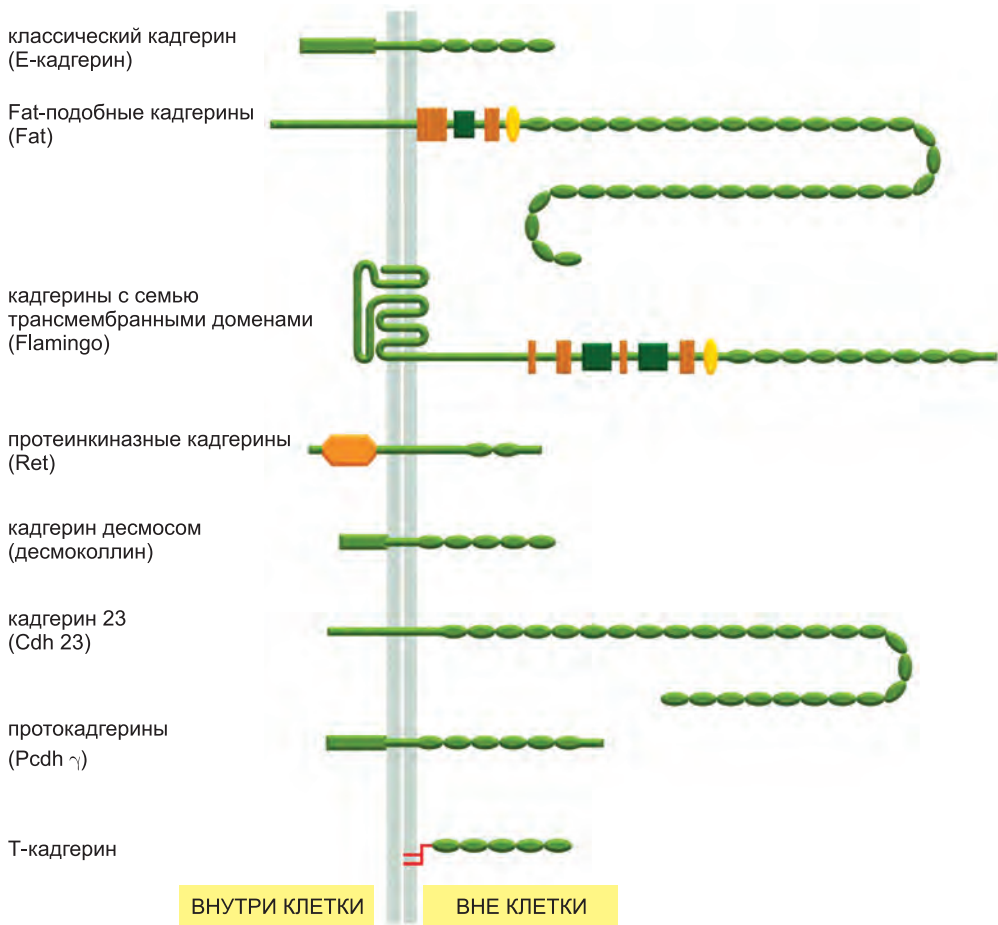


Рис. 19.7. Суперсемейство кадгеринов. Диаграмма в некоторой степени отражает разнообразие белков кадгеринового суперсемейства. У всех этих белков внеклеточная часть содержит множественные кадгериновые домены (*зеленые овалы*), а внутриклеточные части более разнообразны, что обусловлено их взаимодействием с широким классом внутриклеточных лигандов, в том числе с сигнальными молекулами, а также с компонентами, соединяющими молекулы кадгерина с цитоскелетом. Окрашенные в разные цвета последовательности в белках Fat, Flamingo и Ret — это консервативные домены, обнаруженные также в белках других семейств.

19.1.3. Кадгерины опосредуют гомофильную адгезию

Прикрепляющие межклеточные контакты обычно симметричны: если в клетке с одной стороны контакта соединение связано с актиновыми филаментами, то и с другой стороны это будут актиновые филаменты. Соединения с участием кадгеринов, как правило, **гомофильны** (подобное соединяется с подобным, см. [рис. 19.8](#)): молекулы кадгеринов на одной клетке связываются с кадгеринами того же или очень близкого типа на соседней клетке. Согласно современным представлениям, кадгерины связываются N-концевыми структурами — эти участки находятся на наибольшем расстоянии от мембраны. В этом месте белковая цепь

Таблица 19.3. Некоторые представители суперсемейства кадгеринов

| НАЗВАНИЕ | ПРЕИМУЩЕСТВЕННАЯ ЛОКАЛИЗАЦИЯ | УЧАСТИЕ В СОЕДИНЕНИЯХ | ФЕНОТИП МЫШЕЙ ПРИ ИНАКТИВАЦИИ |
|--|--|---|---|
| <i>Классические кадгерины</i> | | | |
| Е-кадгерин | многие эпителии | адгезионные соединения | смерть на стадии бластоцисты; компактизация зародыша невозможна |
| N-кадгерин | нейроны, сердце, скелетные мышцы, хрусталик, фибробласты | адгезионные соединения и химические сигналы | зародыши умирают из-за нарушений сердечной деятельности |
| P-кадгерин | плацента, эпидермис, эпителий грудных желез | адгезионные соединения | нарушение развития молочных желез |
| VE-кадгерин | эндотелиальные клетки | адгезионные соединения | нарушения формирования сосудов (апоптоз эндотелиоцитов) |
| <i>Неклассические кадгерины</i> | | | |
| Десмоколлины | кожа | десмосомы | волдыри на коже |
| Десмоглеин | кожа | десмосомы | образование волдырей из-за отсутствия контактов между кератиноцитами |
| T-кадгерин | нейроны, мышцы, сердце | нет | неизвестен |
| Кадгерин 23 | внутреннее ухо, другие виды эпителия | связь между стереоцилиями чувствительных волосковых клеток | глухота |
| Fat (у дрозофилы) | эпителий и центральная нервная система | коммуникационные соединения (плоскостная полярность клеток) | увеличенные имагинальные диски и опухоли; нарушения плоскостной полярности клеток |
| Fat1 (у млекопитающих) | различные эпителии и центральная нервная система | щелевая диафрагма в почках и другие | отсутствие щелевой диафрагмы; нарушения формирования переднего мозга и глаз |
| α -, β - и γ -протокадгерины | нейроны | химические синапсы и несинаптические мембраны | дегенерация нервной системы |
| Flamingo | чувствительный и некоторые другие виды эпителия | межклеточные контакты | нарушение плоскостной полярности клеток; дефекты нервной трубки |



Рис. 19.8. Гомофильное и гетерофильное связывания. Кадгерины, как правило, связываются гомофильно; некоторые другие молекулы клеточной адгезии (см. далее) — гетерофильно.

формирует концевой узел и близко к нему расположенный карман; молекулы кадгеринов, находящиеся на мембранах двух смежных клеток, укладывают свои узлы в карманы противоположной молекулы, таким образом устанавливая связь друг с другом (рис. 19.9, а).

Промежуток между мембранами клеток в области прикрепляющего контакта точно определен и зависит от структуры кадгеринов. Все члены суперсемейства, по определению, имеют внеклеточную часть, состоящую из нескольких копий последовательности, называемой *кадгериновым доменом*. Внеклеточная часть классических кадгеринов включает 5 таких повторов, у десмоглеинов и десмоколлинов — 4 или 5, однако у некоторых неклассических кадгеринов это число превышает 30. Каждый кадгериновый домен формирует более или менее плотный модуль, соединенный со следующим кадгериновым доменом шарнирным участком (рис. 19.9, б). Ионы Ca^{2+} связываются вблизи каждого шарнира и делают его неподвижным, так что вся цепочка кадгериновых доменов ведет себя как твердый слегка изогнутый стержень. При удалении Ca^{2+} шарниры получают возможность вращаться, и структура становится гибкой. В то же время считается, что конформация N-концевого участка слегка изменяется, уменьшая сродство к соответствующему кадгерину на поверхности противоположной клетки. Молекулы кадгеринов, дестабилизированные удалением ионов Ca^{2+} , быстро расщепляются протеолитическими ферментами.

В отличие от рецепторов растворимых сигнальных молекул, которые очень прочно связывают свой специфический лиганд, кадгеринины (и большинство других белков межклеточной адгезии), как правило, имеют небольшое сродство к своим партнерам. Прочность соединения достигается за счет параллельного образования многих слабых связей. Связываясь с противоположно ориентированными партнерами на другой клетке, молекулы кадгеринов часто объединяются в кластеры с соседними молекулами кадгеринов в той же плазматической мембране. Поэтому прикрепляющий контакт образован многими молекулами кадгеринов, упакованными бок о бок (рис. 19.9, в). Прочность такого соединения намного больше, чем прочность одиночной межмолекулярной связи, но тем не менее его можно легко разъединить, последовательно разрывая связи между молекулами, точно так же как два куска ткани можно прочно соединить застёжкой «липучкой», а затем без труда разнять. Подобный «принцип застёжки» работает также в случае соединений, образуемых трансмембранными белками адгезии других типов. Процессы образования и разрыва прикрепляющих контактов постоянно происходят при развитии зародыша и структурных перестройках тканей взрослого организма, поэтому играют жизненно важную роль.

19.1.4. Селективная межклеточная адгезия позволяет диссоциированным клеткам позвоночных собираться вновь, образуя ткани

Кадгеринины формируют специфические гомофильные соединения, и это объясняет, почему суперсемейство кадгеринов так многочисленно. Кадгеринины нельзя уподобить клею, который делал бы всю поверхность клеток липкой. Они скорее опосредуют высокоселективное распознавание, позволяя клеткам сходного типа липнуть друг к другу и оставаться отделенными от клеток других типов.

Подобное избирательное соединение животных клеток друг с другом было обнаружено более 50 лет назад, задолго до открытия кадгеринов. В этих экспериментах эмбрионы земноводных расщепляли на отдельные клетки, затем клеткам позволяли соединиться заново. Примечательно, что диссоциированные клетки часто

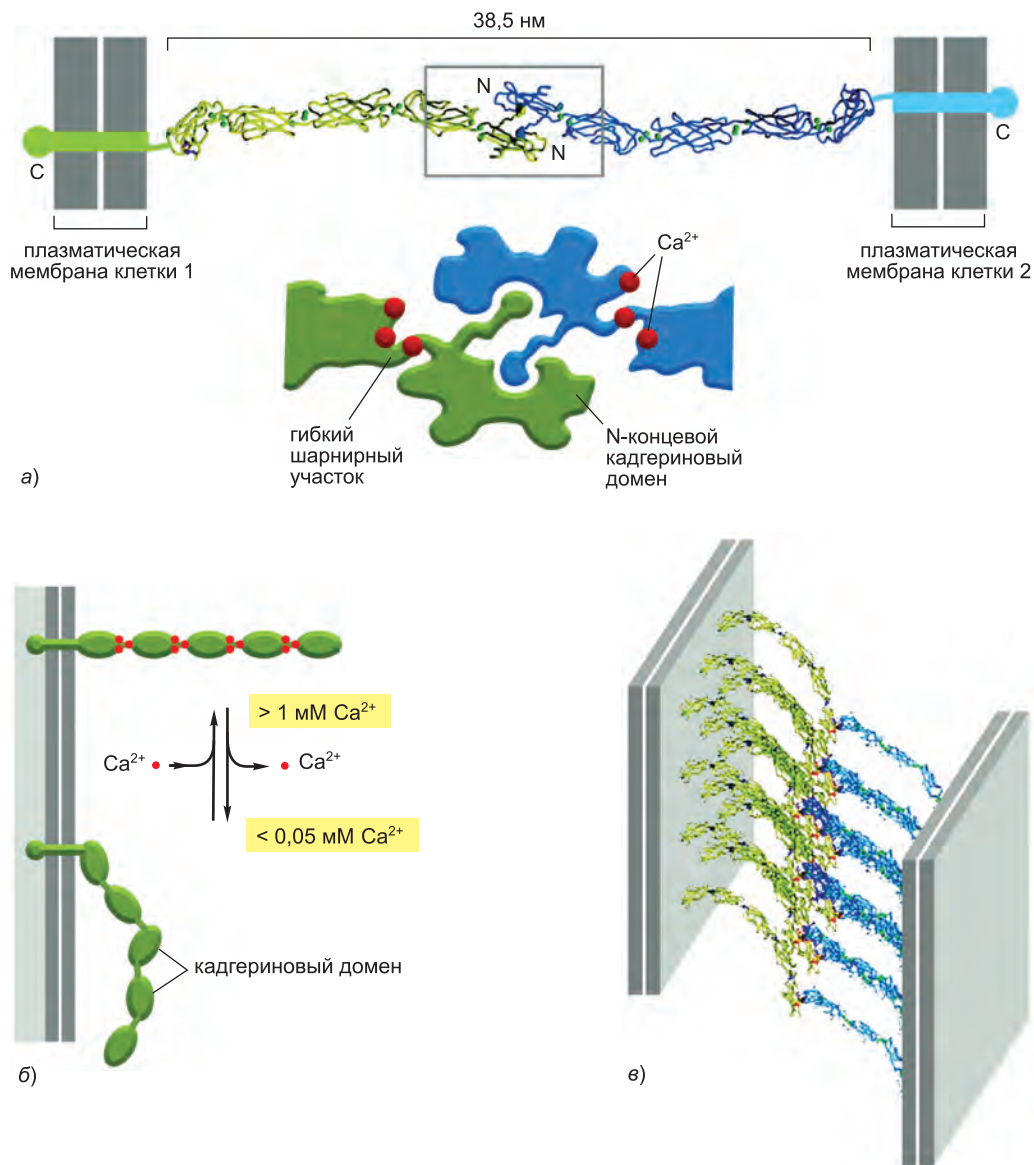


Рис. 19.9. Структура и функция кадгерinov. а) Внеклеточный домен классического кадгерина (С-кадгерина). Показано, как, согласно современным представлениям, соединяются две такие молекулы, располагающиеся на разных клетках. Структура определена методом дифракции рентгеновских лучей на кристалле внеклеточного домена С-кадгерина. б) Внеклеточная часть каждого полипептида состоит из ряда компактных доменов, соединенных гибкими шарнирными участками. Ион кальция связывается в окрестности каждого шарнира, предотвращая его сгибание. В отсутствие Ca^{2+} молекула становится недостаточно жесткой, и межклеточный контакт не образуется. в) Обычно молекулы кадгерина выстраиваются параллельно друг к другу, соединяя клетки по принципу застежки-«липучки». Считается, что кадгерины одной и той же клетки взаимодействуют бок о бок своими N-концевыми участками, а также через подложку из других белков, к которой прикреплены их внутриклеточные концы (на рисунке не отображено). (По T.J. Voggon et al., *Science* 296: 1308–1313, 2002. С разрешения издательства AAAS.)

собирались *in vitro* в структуры, очень сходные со структурой первоначального эмбриона (рис. 19.10). То же явление наблюдалось, когда смешивали диссоциированные клетки двух эмбриональных органов позвоночных, например печени и сетчатки, и из них искусственно формировали шарик: клетки в смешанной агрегации постепенно расслаивались согласно тому, какому органу они принадлежали. Более общий принцип состоит в том, что дезагрегированные клетки, как обнаружено, более склонны к образованию комплексов с клетками своего органа, чем с клетками других органов. Очевидно, мы имеем дело с системой распознавания клетки клеткой, благодаря которой клетки одной и той же дифференцированной ткани более склонны устанавливать контакты друг с другом, чем с клетками другой ткани.

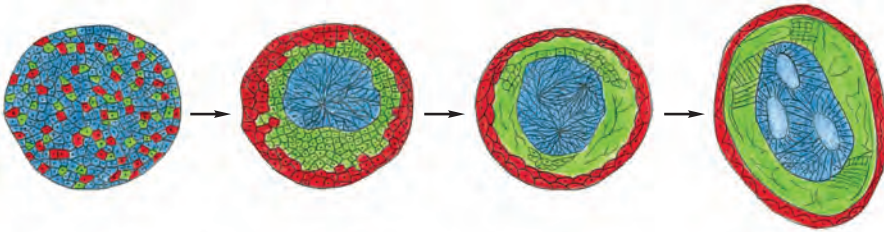


Рис. 19.10. Расслаивание. Клетки, взятые из разных частей раннего эмбриона земноводного, расслаиваются согласно своему происхождению. В классическом эксперименте, представленном здесь, суспензия дезагрегированных клеток мезодермы (зеленый цвет), нервной пластинки (синий цвет) и эпидермальных клеток (красный цвет) агрегировала вновь случайным образом. Затем происходило расслоение клеток, отражающее их расположение в нормальном эмбрионе: «нервная трубка» внутри, эпидермис снаружи, а мезодерма — между ними. (Из P. L. Townes and J. Holtfreter, *J. Exp. Zool.* 128: 53–120, 1955, с изменениями. С разрешения издательства Wiley-Liss.)

Такие находки свидетельствуют о том, что архитектура ткани животного не определяется только лишь ее предысторией, но активно формируется и поддерживается, и в этом большую роль играет разница в сродстве клеток друг к другу и к внеклеточному матриксу. Ведь в развивающемся зародыше мы можем наблюдать клетки в процессе их дифференцировки и видеть, как они перемещаются и объединяются, ведомые селективной адгезией, в новые группы, формируя при этом новые структуры. Некоторые из этих движений почти незаметны, другие более масштабны и включают даже дальние миграции, которые мы обсудим в главе 22. В эмбрионах позвоночных, к примеру, клетки *нервного гребня* отходят от эпителиальной нервной трубки, частью которой они первоначально являлись, и мигрируют вдоль особых путей ко многим другим областям. Там они вновь агрегируют друг с другом и с другими клетками, формируя множество разнообразных тканей, в том числе участки периферической нервной системы (рис. 19.11). Выбор пути зависит от лежащих на этом пути эмбриональных тканей. Они могут способствовать положительному или отрицательному *хемотаксису*, то есть движению под влиянием растворимых веществ, привлекающих или отталкивающих мигрирующие клетки. Кроме того, они могут обеспечивать *контактное ориентирование*, при котором клетки-мигранты касаются других клеток или компонентов внеклеточного матрикса, устанавливая временные контакты, влияющие на выбор направления миграции. Затем, когда мигрирующая клетка достигла места своего назначения, она должна распознать другие клетки соответствующего типа и присоединиться к ним, чтобы образовать ткань. Во всех

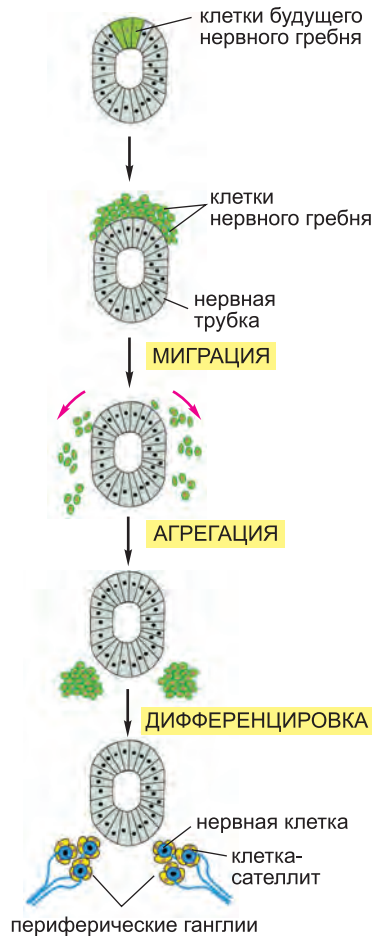


Рис. 19.11. Селективное распространение и повторная сборка клеток при формировании тканей эмбриона позвоночных животных. Некоторые клетки, изначально принадлежащие нервной трубке, изменяют свои адгезивные свойства и открепляются от эпителия, формируя нервный гребень на верхней поверхности нервной трубки. Затем эти клетки мигрируют по всему эмбриону и формируют множество типов тканей и разновидностей клеток. Здесь показан процесс дифференцировки клеток, формирующих две группы нервных клеток — два ганглия периферической нервной системы. Некоторые из клеток нервного гребня становятся нейронами, входящими в состав ганглия, из других развиваются клетки-сателлиты (специализированные глиальные клетки), обмотанные вокруг нейрона. В основе всех этих архитектурных перестроек лежит смена характера экспрессии молекул клеточной адгезии.

этих процессах, включая расслаивание, контактное ориентирование и формирование тканей, кадгеринны играют принципиальную роль.

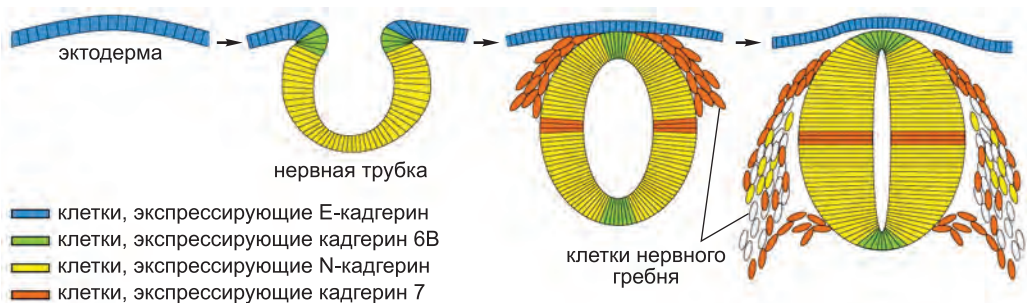
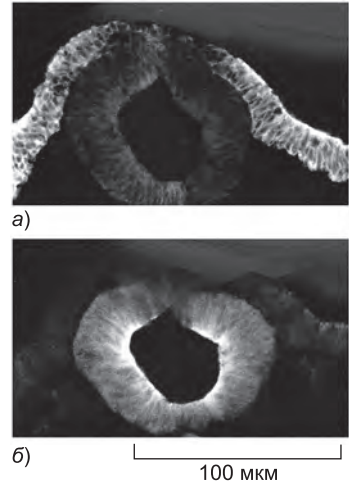
19.1.5. Кадгеринны контролируют расслаивание клеток

Появление и исчезновение специфических кадгериннов определенным образом соотносится со стадиями эмбрионального развития, на которых происходит перегруппировка клеток и изменение контактов между ними. Например, при формировании нервной трубки и ее отделении от покрывающей сверху эктодермы, ее клетки утрачивают E-кадгерин и приобретают другие кадгеринны, включая N-кадгерин, в то время как клетки в эктодерме продолжают вырабатывать E-кадгерин (рис. 19.12, а, б). Затем, когда клетки нервного

гребня отделяются от нервной трубки и начинают перемещаться, эти кадгеринны почти не обнаруживаются, зато появляется другой кадгерин (кадгерин-7), который помогает удерживать мигрирующие клетки в составе слабо ассоциированной группы (рис. 19.12, в). Наконец, когда клетки агрегируют и образуют ганглий, они снова начинают вырабатывать N-кадгерин (см. рис. 19.11). Если искусственно увеличить выработку N-кадгерина в развивающихся клетках нервного гребня, то эти клетки оказываются неспособными отделиться от нервной трубки.

Исследования на культурах клеток подтверждают предположение о том, что гомофильное связывание кадгериннов контролирует процессы формирования ткани. Например, в клетках линии фибробластов, называемых *L-клетками*, кадгеринны не экспрессируются и клетки не могут установить контакты друг с другом. Однако если в эти клетки ввести ДНК, кодирующую E-кадгерин, то они приобретают эту способность и их адгезия подавляется при обработке антителами к E-кадгерину. Поскольку трансфицированные клетки не могут установить соединение с интактными *L-клетками*, мы можем сделать вывод, что прикрепление происходит тогда, когда E-кадгерин на одной клетке соединяется с E-кадгеринном на другой. Если смешать *L-клетки*, экспрессирующие различные кадгеринны, они отсортировываются

Рис. 19.12. Изменение характера экспрессии кадгеринов при конструировании нервной системы. Представлены поперечные срезы куриного эмбриона на ранних стадиях развития: а) отделение нервной трубки от эктодермы и отделение нервного гребня от нервной трубки. На рисунках (а, б) представлены иммунофлуоресцентные микрофотографии развивающейся нервной трубки, окрашенной антителами к (а) E-кадгерину и (б) N-кадгерину. в) При смене характера экспрессии генов различные группы клеток обособляются друг от друга согласно тому, какие кадгеринны они вырабатывают. (Микрофотографии любезно предоставлены Kohei Hatta и Masatori Takeichi.)



в)

и агрегируют отдельно друг от друга, что свидетельствует о преимущественном связывании с кадгеринами своего типа (рис. 19.13, а). Это имитирует события, которые происходят при смешивании клеток, выделенных из тканей с разными типами кадгеринов. Подобная же сегрегация обнаружена при смешении L-клеток, с разной интенсивностью вырабатывающих один и тот же кадгерин (рис. 19.13, б). Поэтому вполне вероятно, что как качественные, так и количественные различия в экспрессии кадгеринов играют большую роль в организации тканей.

19.1.6. Twist регулирует эпителиально-мезенхимальные переходы

Агрегация клеток при формировании эпителия представляет собой обратимый процесс. Дисперсные одиночные клетки (часто называемые *мезенхимальными клетками*), если они начинают вырабатывать молекулы адгезии, могут собираться вместе, образуя эпителий. И наоборот, эпителиальные клетки могут менять свой характер, распадаться и даже покидать родительский эпителий, становясь отдельными клетками. Подобные *эпителиально-мезенхимальные переходы* играют важную роль в нормальном зародышевом развитии; происхождение нервного гребня — один из примеров (см. рис. 19.11). Судя по всему, система управления, включающая в себя набор регуляторов экспрессии, таких как Slug, Snail и Twist, а также (на следующем этапе) E-кадгерин, активно участвует в этих переходах: например, в некоторых тканях двукрылых и позвоночных запуск экспрессии Twist превращает эпителиаль-

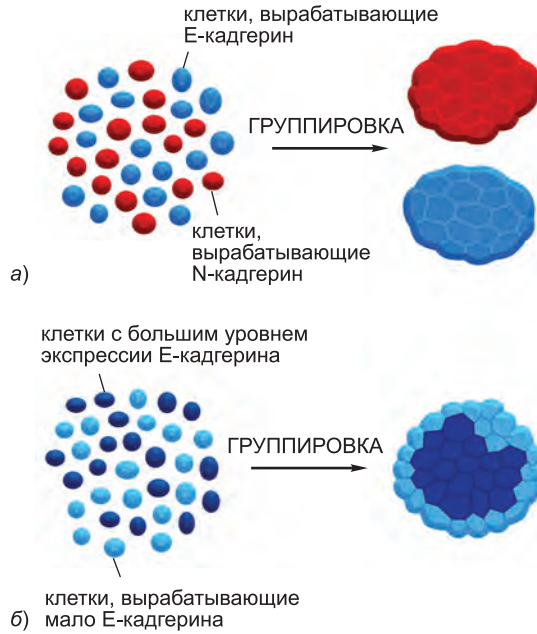


Рис. 19.13. Кадгерин-зависимая группировка клеток. Клетки в культуре могут группироваться согласно типу вырабатываемого кадгерина и уровню его экспрессии. Это можно продемонстрировать, пометив различные популяции клеток красителями разных цветов. а) Клетки, экспрессирующие N-кадгерин, отделяются от клеток, вырабатывающих E-кадгерин. б) Клетки с большим уровнем экспрессии E-кадгерина отделяются от клеток, вырабатывающих мало E-кадгерина.

ные клетки в мезенхимальные, а прекращение его выработки оказывает противоположное действие.

Эпителиально-мезенхимальные переходы также проявляются как патологические события во взрослой жизни, а именно при онкологических заболеваниях. Большинство форм рака возникает на основе эпителия,

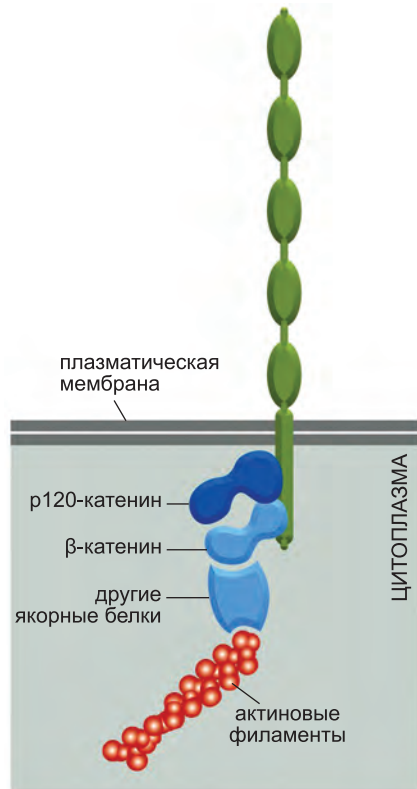
однако раковые клетки приобретают опасную способность распространяться — то есть становятся *злокачественными*, — только когда отделяются от родного эпителия и внедряются в другие ткани. Эксперименты с культивируемыми злокачественными клетками рака молочной железы показывают, что в результате блокировки экспрессии Twist они могут снова потерять свои злокачественные свойства. И наоборот, повысив уровень экспрессии Twist, можно заставить нормальные эпителиальные клетки претерпеть эпителиально-мезенхимальный переход и вести себя подобно злокачественным клеткам. Эффект Twist основан (по крайней мере отчасти) на подавлении экспрессии кадгеринов, скрепляющих эпителиальные клетки. Мишенью, в частности, является E-кадгерин. Действительно, мутации, препятствующие выработке или функционированию E-кадгерина, зачастую обнаруживают в раковых клетках. Считают, что они способствуют превращению клеток в злокачественные (см. главу 20).

19.1.7. Катенины связывают классические кадгерин с актиновым цитоскелетом

Внеклеточные домены кадгеринов участвуют в гомофильном связывании. Внутриклеточные домены типичных кадгеринов, включая все классические и некоторые неклассические, связываются с филаментами цитоскелета: актиновыми в случае адгезионных контактов и промежуточными в случае десмосом (см. рис. 19.3). Связь с цитоскелетом непрякая; в ней участвует группа вспомогательных *внутриклеточных якорных белков*, которые формируют кластер на конце кадгерина. Этот связующий комплекс, присоединяющий один из белков кадгеринового семейства к актиновым либо промежуточным филаментам, включает в себя несколько различных молекул (рис. 19.14). Его компоненты изменяются в зависимости от типа прикрепления; однако главную роль, как правило, играет β -катенин и/или его близкий родственник γ -катенин (плакоглобин).

Рис. 19.14. Прикрепление классических кадгеринов к актиновым филаментам. Кадгерины напрямую крепятся к актиновым филаментам с помощью β -катенина и других якорных белков. α -катенин, винкулин и плакоглобин (белок, родственник β -катенину, его также называют γ -катенином), возможно, тоже присутствуют в этом комплексе либо принимают участие в его сборке. Детали этого процесса не ясны. Другой внутриклеточный белок, p120-катенин, также связывается с цитоплазматическим доменом кадгерина и регулирует функцию последнего. Как обсуждалось в главе 15, кадгерин выполняет, кроме того, очень важную сигнальную функцию (см. рис. 15.77).

В адгезионных контактах также принимает участие дальний родственник этих белков, *p120-катенин*, помогающий регулировать сборку целого комплекса. Если искусственно снизить выработку p120-катенина, то кадгерин быстро деградирует и межклеточная адгезия нарушается. Искусственное повышение уровня p120-катенина оказывает противоположное действие. Возможно, что клетки используют изменение уровня p120-катенина или его фосфорилированности для регуляции прочности адгезии. В любом случае, связь с актином, судя по всему, очень важна для эффективного межклеточного соединения, поскольку классические кадгеринины, у которых отсутствует цитоплазматический домен, не могут надежно скреплять клетки.



19.1.8. Адгезионные контакты координируют актин-опосредованную подвижность соседних клеток

Адгезионные контакты во многом определяют морфологию многоклеточных структур в теле животного. Выступая в роли посредника при связывании актиновых филаментов одной клетки с актиновыми филаментами ее соседей, они позволяют клеткам в ткани координировать движения своих актиновых цитоскелетов.

Адгезионные контакты могут принимать различные формы. Во многих неэпителиальных тканях они имеют вид небольших точек или полос, которые организуют непрямую связь между кортикальными актиновыми филаментами двух взаимодействующих клеток. В сердечной мышце (см. главу 23) они прикрепляют актиновые пучки к сократительному аппарату и действуют параллельно с десмосомами, соединяя сократительные клетки торец к торцу. (Обращенные друг к другу поверхности мышечных клеток, на которых расположены эти соединения, при окрашивании отчетливо видны в световой микроскоп и имеют вид так называемых *вставочных дисков*.) Но наиболее типичные примеры адгезионных соединений можно обнаружить в эпителии, где они часто формируют непрерывный **адгезионный пояс** (или *поясок сцепления*) непосредственно под апикальной поверхностью эпителия. Поясок сцепления окружает каждую из взаимодействующих клеток пласта (рис. 19.15). Изнутри к адгезионному поясу каждой клетки подходит сократительный пучок

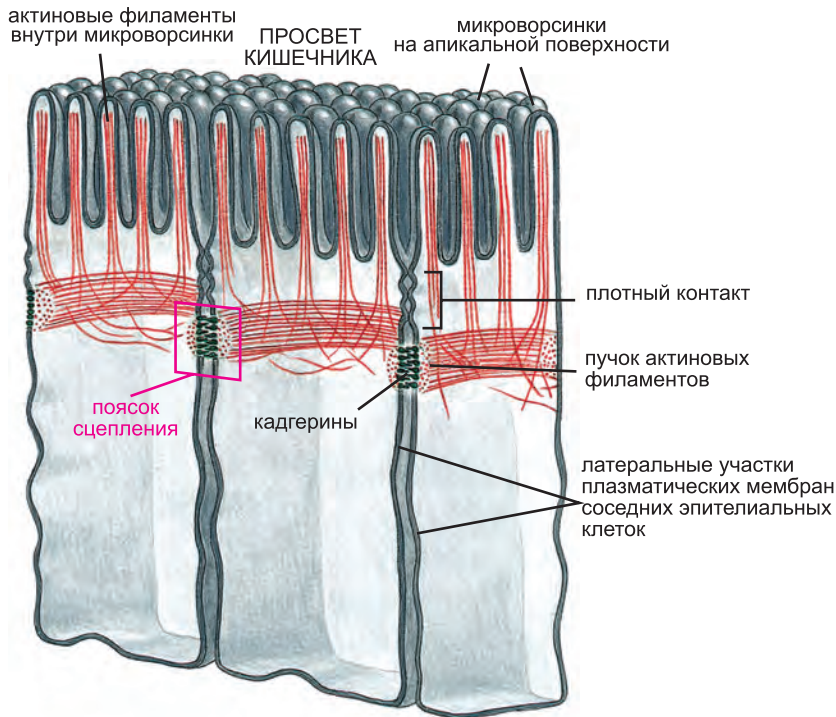


Рис. 19.15. Адгезионные контакты между эпителиальными клетками в тонком кишечнике. Эти клетки специализируются на поглощении питательных веществ; на их апикальной поверхности, обращенной в просвет кишки, находится множество микроворсинок (отростков, служащих для увеличения площади поглощающей поверхности). Адгезионные контакты формируют *поясок сцепления*, окружающий каждую из взаимодействующих клеток. Для него характерно наличие актиновых филаментов, идущих вдоль поверхности мембраны в месте контакта. Пучки актиновых филаментов связаны с кадгеринами посредством внутриклеточных якорных белков. Кадгерины пересекают плазматическую мембрану, а внеклеточные домены кадгеринов на соседних клетках гомофильно связываются. Таким образом, пучки актиновых филаментов соседних клеток оказываются соединенными друг с другом.

актиновых филаментов, ориентированный параллельно плазматической мембране и прикрепленный к ней при помощи кадгеринов и ассоциированных с ними внутриклеточных якорных белков. Таким образом, актиновые пучки с помощью кадгеринов и якорных белков связаны в обширную межклеточную сеть. Эта сеть может сокращаться, используя белки миозинового двигателя (см. главу 16), обеспечивая подвижность, необходимую для важнейших процессов морфогенеза животных — формирования трубок, везикул и других подобных структур из пласта эпителиальных клеток (рис. 19.16).

19.1.9. Десмосомы придают эпителию механическую прочность

Десмосомы похожи по структуре на адгезионные контакты, но связаны с промежуточными, а не с актиновыми филаментами. Их основная функция состоит в обеспечении механической прочности. Десмосомы играют большую роль у позвоночных, однако не обнаружены, например, у дрозофилы. Они присутствуют

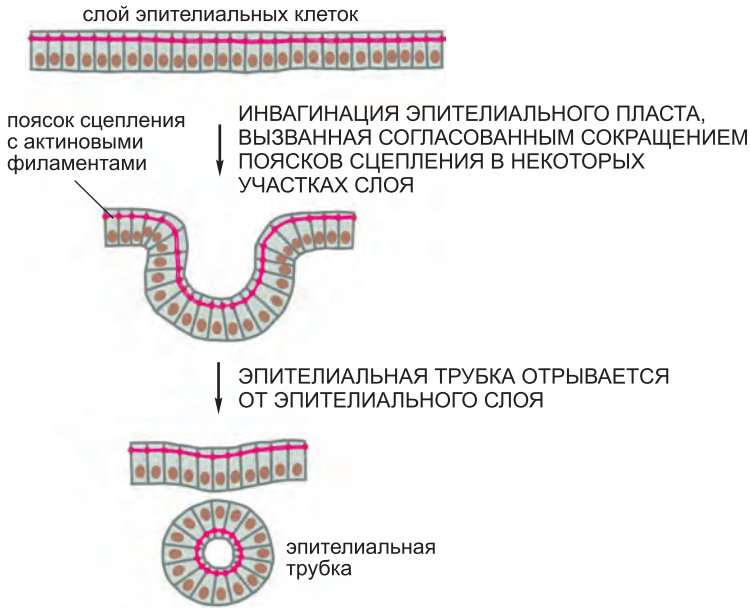


Рис. 19.16. Образование эпителиальной трубки путем сворачивания эпителиального пласта. Согласованное сокращение актиновых филаментов, идущих вдоль пояска сцепления, заставляет клетки сужаться в апикальной части и помогает эпителиальному пласту свернуться в трубку. В качестве примера можно привести формирование нервной трубки в раннем развитии позвоночных (см. рис. 19.12 и главу 22). Считают, что перераспределение клеток внутри эпителиального слоя также играет важную роль в этом процессе (не показано).

в большинстве зрелых эпителиев позвоночного, но особенно их много в эпидермисе, то есть эпителии, формирующем внешний слой кожи; излюбленным объектом биохимических исследований является эпидермис носа быка. Прочность этой ткани особенно важна, ведь каждый раз, когда животное пасется, ей приходится противостоять повреждениям.

На [рис. 19.17, а](#) показано общее строение десмосомы, а на [рис. 19.17, б](#) представлены некоторые формирующие ее белки. Как правило, десмосомы выглядят как заклепки, скрепляющие клетки друг с другом ([рис. 19.17, в](#)). Внутри клетки пучки напоминающих канат промежуточных филаментов, прикрепленных к десмосоме, образуют очень прочный структурный каркас ([рис. 19.17, г](#)), связанный с аналогичными пучками соседней клетки и создающий охватывающую всю ткань сеть ([рис. 19.18](#)). Конкретный тип промежуточных филаментов, прикрепленных к десмосоме, зависит от типа клетки: это могут быть, например, *кератиновые филаменты*, как в большинстве эпителиальных клеток, либо *десминовые филаменты*, как в клетках сердечной мышцы.

Важность десмосом показывают некоторые формы *пузырчатки*, смертельно опасного кожного заболевания. При этом заболевании организм вырабатывает антитела к одному из своих собственных десмосомальных кадгеринов. Эти антитела связываются с десмосомой, прикрепляющей друг к другу эпидермальные клетки (кераноциты), и разрушают ее. В результате на коже образуются волдыри, а жидкости организма просачиваются в ослабленный эпителий.

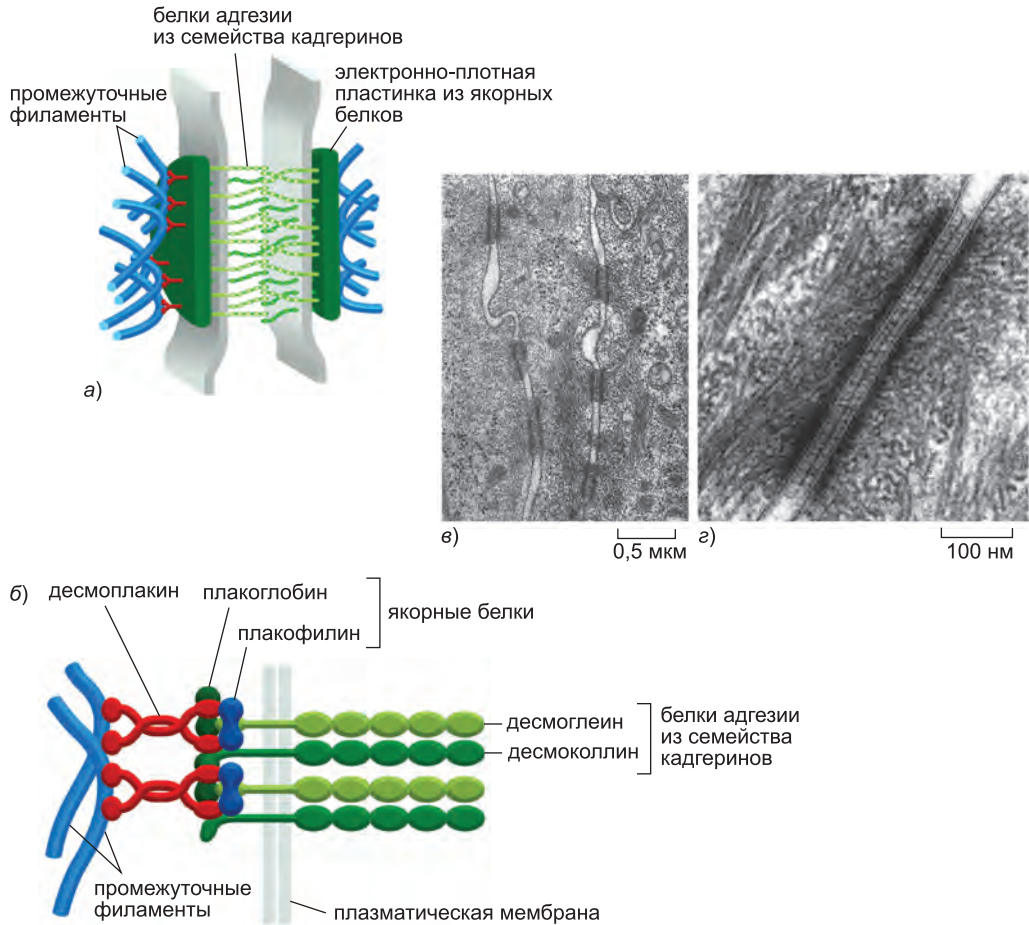
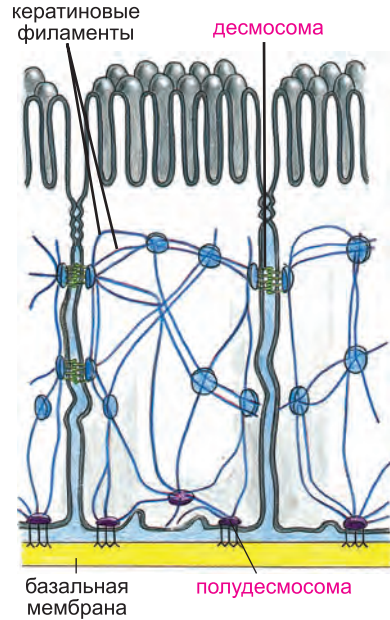


Рис. 19.17. Десмосомы. *а)* Структурные компоненты десмосомы. На цитоплазматической поверхности каждой из взаимодействующих плазматических мембран находится электронно-плотная пластинка, в состав которой входят различные внутриклеточные якорные белки. К поверхности каждой такой пластинки крепится пучок кератиновых промежуточных филаментов. Трансмембранные белки адгезии из семейства кадгеринов также связываются с пластинками; их внеклеточные домены взаимодействуют друг с другом, соединяя смежные мембраны при участии Ca^{2+} -зависимого механизма. *б)* Некоторые молекулярные компоненты десмосомы. Десмоглеин и десмоколлин — представители кадгеринового семейства белков адгезии. Их цитоплазматические концы связываются с *плакоглобином* (γ -катенином) и *плакофилином* (дальний родственник p120-катенина), который, в свою очередь, связан с *десмоплакином*. Последний связывается с боковыми поверхностями промежуточных филаментов, тем самым закрепляя их на десмосоме. *в)* Электронная микрофотография десмосомного контакта между эпидермальными клетками кожи мышонка. *г)* Участок той же ткани при большем увеличении: видна отдельная десмосома, а также связанные с ней промежуточные филаменты. (*в* и *г* — из W. He, P. Cowin and D. L. Stokes, *Science* 302: 109–113, 2003. С разрешения издательства AAAS.)

19.1.10. Межклеточные контакты посылают сигналы внутрь клетки

Установление и разрыв контактов являются важными событиями в жизни клетки и вызывают большие изменения в ее внутренних процессах. И наоборот, изменение

Рис. 19.18. Десмосомы, полудесмосомы и сеть промежуточных филаментов. Сети кератиновых промежуточных филаментов смежных клеток (в данном случае — клеток эпителия тонкого кишечника) связаны друг с другом через десмосомы, а с базальной мембраной — через полудесмосомы.



внутреннего состояния клетки, скорее всего, может стимулировать образование или разрыв контактов. Таким образом, существует сложная перекрестная связь между механизмами прикрепления и путями передачи химических сигналов. Например, как мы уже знаем, изменения уровня выработки p120-катенина могут регулировать образование адгезионных контактов; мы также упоминали, что некоторые внутриклеточные сигнальные пути могут управлять образованием контактов, фосфорилируя различные белки, участвующие в их установлении (в том числе p120-катенин). Ниже мы обсудим, как сигнал об образовании или разрыве контактов может проходить внутрь клетки; в этом участвуют белки скэффолда, находящиеся на внутриклеточной стороне контакта.

Еще одним основным участником двустороннего взаимодействия между адгезией и передачей сигнала считается β -катенин. В настоящей главе мы рассматриваем его как важнейший внутриклеточный якорный белок адгезионного соединения, связывающий кадгерины с актиновыми филаментами. В главе 15 он предстал перед нами в другой роли, а именно как участник межклеточного сигнального Wnt-пути: там он перемещается из цитоплазмы к ядру, активируя транскрипцию необходимых генов. За адгезивную и генно-регуляторную функции отвечают разные части молекулы, но тем не менее одна и та же молекула не может выполнять обе функции одновременно. В результате распада адгезионного соединения молекулы β -катенина свободно перемещаются от поверхности клетки к ее ядру, выступая в качестве сигнальных молекул, и наоборот, активность компонентов сигнального Wnt-пути (регулирующих фосфорилирование и деградацию β -катенина) может контролировать доступность β -катенина при образовании адгезионного соединения.

Некоторые неклассические кадгерины могут по-другому передавать сигналы внутрь клетки. Например, у белков подсемейства Flamingo есть трансмембранный домен, семикратно пронизывающий мембрану, что позволяет предположить, что они могут функционировать как рецепторы, сопряженные с G-белками. В качестве другого примера можно привести кадгерин эндотелия сосудов (vascular endothelial cadherin, VE-cadherin). Этот белок не только участвует в установлении контактов между эндотелиальными клетками, но также необходим для их выживания. Хотя у тех эндотелиальных клеток, которые не вырабатывают VE-кадгерин, тем не менее есть возможность связаться друг с другом через N-кадгерин, они в конце концов погибают, поскольку не способны адекватно реагировать на внеклеточный белок, называемый фактором роста эпителия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF), который служит сигналом выживания. VEGF связывается с рецепторной тирозинкиназой (см. главу 15), для которой VE-кадгерин необходим в качестве ко-рецептора.

19.1.11. Селектины опосредуют временные межклеточные контакты в кровяном потоке

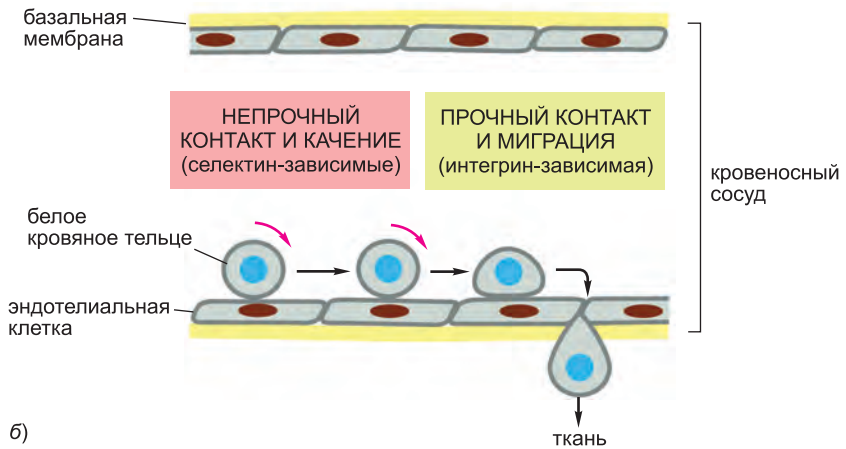
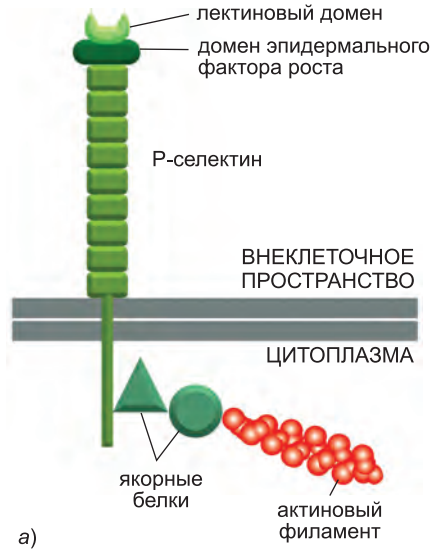
Суперсемейство кадгеринов играет главную роль в межклеточной адгезии у животных, однако в образовании этих контактов участвуют еще как минимум три суперсемейства белков межклеточной адгезии: *интегрины*, *селектины* и адгезионные *иммуноглобулины* (Ig). Далее мы обсудим интегрины более подробно: их основная функция заключается в участии в контактах клетки и матрикса, но некоторые из них в особых обстоятельствах опосредуют межклеточную адгезию. Кальциевая зависимость подсказывает нам простой способ экспериментально различить эти классы белков. Селектины, так же как кадгерины и интегрины, для осуществления своей адгезивной функции требуют присутствия ионов Ca^{2+} ; белки Ig-суперсемейства — нет.

Селектины являются поверхностными углевод-связывающими белками (*лектинами*), участвующими в установлении различных временных межклеточных адгезионных взаимодействий в кровотоке. Их основная роль (по крайней мере у позвоночных) состоит в участии в воспалительной реакции и в управлении движением лейкоцитов. Эти клетки ведут кочевой образ жизни, блуждая между кровяным руслом и тканями, что определяет их особенности при установлении контактов. Селектины контролируют связывание лейкоцитов с клетками эндотелия, выстилающими кровяные сосуды, тем самым позволяя клеткам крови покидать кровяное русло и внедряться в ткань.

Отдельный селектин представляет собой трансмембранный белок с консервативным лектиновым доменом, который связывается с определенным олигосахаридом на поверхности другой клетки (**рис. 19.19, а**). Известно как минимум три типа селектинов: *L-селектин*, располагающийся на поверхности лейкоцитов, *P-селектин* — на тромбоцитах и на эндотелиоцитах, локально активированных воспалительной реакцией, и *E-селектин*, находящийся на активированных эндотелиальных клетках. В лимфоидном органе, таком как лимфоузел или миндалевидная железа, эндотелиоциты вырабатывают олигосахариды, распознаваемые L-селектином лимфоцитов, в результате чего лимфоциты замедляют движение и оказываются в ловушке. Там, где развивается воспалительная реакция, роли меняются: эндотелиоциты запускают экспрессию селектинов, которые распознают олигосахариды на поверхности лейкоцитов и тромбоцитов, призывая их остановиться и помочь справиться с аварийной ситуацией. Однако селектины не действуют в одиночку; они работают на пару с интегринами, которые усиливают связь клеток крови с эндотелием. Межклеточные контакты, в которых участвуют как селектины, так и интегрины, являются *гетерофильными* — то есть связь осуществляется между молекулами разного типа: селектины связываются с определенными олигосахаридами гликопротеидов или гликолипидов, в то время как интегрины специфично связываются с другими белками.

Селектины и интегрины действуют последовательно, позволяя лейкоцитам покидать кровотоки и входить в ткань (**рис. 19.19, б**). Селектины опосредуют слабые адгезионные взаимодействия, поскольку их лектиновый домен имеет низкое сродство к своему олигосахаридному лиганду. Это приводит к тому, что лейкоциты связываются с эндотелием слабо и обратимо и могут катиться по поверхности кровяного сосуда, подталкиваемые движением крови. Такое движение продолжается до тех пор, пока лейкоцит не активирует свои интегрины. Как мы обсудим далее, эти трансмембранные молекулы могут переходить в «липкую» конформацию, позволяющую им

Рис. 19.19. Структура и функции селектинов. а) Структура Р-селектина. Этот селектин связан с актиновым цитоскелетом с помощью плохо изученных якорных белков. б) Схема, иллюстрирующая роль селектинов и интегринов в установлении межклеточных контактов, необходимых для миграции лейкоцитов из кровеносного сосуда в ткань. Прежде всего, селектины эндотелиальных клеток связываются с олигосахаридами на поверхности белой клетки крови, в результате чего она непрочно прикрепляется к стенке сосуда. Затем в плазматической мембране лейкоцита активируется интегрин (обычно это интегрин LFA1). Теперь этот интегрин может связаться с белком-иммуноглобулином ICAM1 на мембране эндотелиальной клетки. Эта более прочная связь позволяет лейкоциту покинуть кровяное русло.



прочно сцепляться с другими молекулами вне клетки — в нашем случае, с белками на поверхности клеток эндотелия. Как только такое сцепление произошло, лейкоцит переходит из кровяного русла в ткань, проталкиваясь между эндотелиоцитами.

19.1.12. Белки суперсемейства иммуноглобулинов участвуют в Ca^{2+} -независимой межклеточной адгезии

Основные белки эндотелиальных клеток, которые распознают интегрины лейкоцитов, носят название *ICAM* (*intercellular cell adhesion molecules*, межклеточные белки клеточной адгезии) и *VCAM* (*vascular cell adhesion molecules*, белки адгезии клеток сосудов). Они являются членами еще одного большого и древнего семейства поверхностных молекул — **суперсемейства иммуноглобулинов (Ig)**. Эти белки содержат один или несколько внеклеточных Ig-подобных доменов, характерных для молекул антител (см. главу 25). У них есть много функций, не связанных с иммунной системой и иммунными заболеваниями.

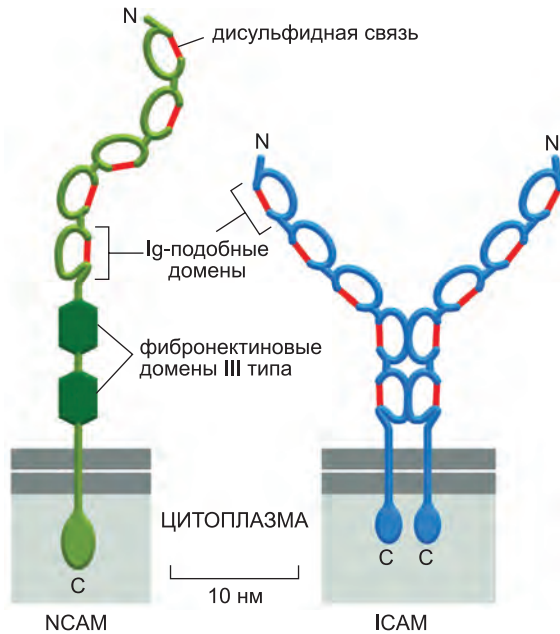


Рис. 19.20. Два белка клеточной адгезии — представители суперсемейства иммуноглобулинов. NCAM вырабатывают нейроны и многие другие клетки; он участвует в гомофильном связывании. Здесь показан лишь его белковый остов; часто к нему ковалентно присоединяются цепи сиаловой кислоты (полисахарид), затрудняющие установление контакта. ICAM вырабатывается в эндотелиальных и некоторых других клетках. Он гетерофильно связывается с интегрином на поверхности лейкоцитов.

В то время как и ICAM, и VCAM на поверхности эндотелиоцитов опосредуют гетерофильное связывание с интегринами, многие другие белки Ig — семейства, оказывается, участвуют в гомофильном связывании. В качестве примера можно привести NCAM (*neural cell adhesion molecule*, молекула адгезии нервных

клеток), которая вырабатывается клетками различных типов, включая большинство нервных клеток, и может принимать различные формы, получаемые в результате альтернативного сплайсинга РНК-транскриптов одного и того же гена (рис. 19.20). Некоторые формы NCAM несут на себе необычно много сиаловой кислоты (цепи, состоящие из сотен остатков сиаловой кислоты). Благодаря своему отрицательному заряду длинные полисиаловые цепи могут влиять на клеточную адгезию (поскольку одноименные заряды отталкиваются). NCAM, сильно нагруженный сиаловой кислотой, могут даже подавлять адгезию, а не способствовать ей.

При взаимодействии с соседями клетки обычно используют несколько различных белков адгезии; точно так же клетка имеет несколько различных рецепторов растворимых внеклеточных сигнальных молекул, таких как гормоны и факторы роста. Хотя кадгерини и белки Ig-семейства часто экспрессируются в одних и тех же клетках, контакты, опосредованные кадгеринами, намного прочнее, и именно они, по большей части, отвечают за соединение клеток друг с другом, обособление групп клеток при образовании тканей и поддержание целостности ткани. Молекулы, подобные NCAM, вероятно, играют роль лишь в тонкой подстройке этих адгезионных взаимодействий при развитии и регенерации тканей, и принимают участие в формировании особых контактов, как тот, что образуется между кровяными и эндотелиальными клетками. Поэтому, в то время как мутантные мыши, у которых отсутствует N-кадгерин, погибают на ранних стадиях развития, мыши, у которых нет NCAM, развиваются относительно нормально, но проявляют некоторые слабые отклонения в развитии определенных тканей, включая некоторые участки нервной системы.

19.1.13. В формировании синапса участвуют многие молекулы клеточной адгезии

В нейронах сложные молекулярные системы адгезии играют особенно важную роль, поскольку они, наряду с хемоаттрактантами и растворимыми сигнальными

факторами, определяют направление роста аксона и управляют образованием специфических нервных соединений (см. главу 22). Помимо прочих молекул, в этих процессах большое значение имеют белки адгезии из суперсемейства иммуноглобулинов. К примеру, у плодовых мушек с дефектным белком *Fasciclin2*, родственным NCAM, некоторые аксоны следуют неверным путем и не достигают своего назначения.

Другой белок Ig-суперсемейства, *Fasciclin3*, позволяет конусам роста нейронов при приближении к своим целям успешно их распознавать. Эти белки временно экспонируются на поверхности некоторых двигательных нейронов у дрозофилы, а также на поверхности мышечных клеток, которые они обычно иннервируют. Если эти моторные нейроны генетическими методами лишить белка *Fasciclin3*, то они не могут распознать свои целевые мышечные клетки и не формируют с ними синапс. И наоборот, если двигательные нейроны, которые в норме не вырабатывают *Fasciclin3*, заставить производить этот белок, то они будут образовывать синапсы с мышечными клетками, вырабатывающими *Fasciclin3*, хотя в норме такая связь не устанавливается. Похоже, что *Fasciclin3* опосредует эти синаптические соединения посредством гомофильного связывания по принципу соответствия. Белки семейства иммуноглобулинов играют сходную роль у позвоночных. Белки подсемейства *Sidekicks*, к примеру, участвуют в гомофильном связывании, и различные *Sidekicks*-белки экспрессируются в различных слоях сетчатки, формируя синапсы между нейронами сетчатки, вырабатывающими один и тот же белок из этого семейства. Если характер экспрессии искусственно изменить, то соответствующим образом меняется и сеть синаптических контактов.

Молекулы адгезии, участвующие в инициации формирования синапса, ни в коем случае не исчерпываются белками Ig-суперсемейства. Недостаточная либо, наоборот, излишняя выработка некоторых других белков синаптической адгезии, не относящихся ни к одному из упомянутых нами до сих пор типов, может направить конусы роста по ложному пути и заставить формировать синапс с клеткой, не являющейся нейроном, которая в норме никогда не была бы иннервирована. Так, если принудить не нервные клетки вырабатывать *нейролигин*, трансмембранный белок, эволюционно родственной ацетилхолинэстеразе, нейроны будут образовывать с ними синапс, поскольку *нейролигин* связывается с белком *нейрексином*, находящимся на мембране пресинаптического нейрона.

19.1.14. Соединительные комплексы образуются благодаря белкам скэффолда

Чтобы образовать синапс, пре- и постсинаптические клетки должны не только распознать друг друга и установить контакт: им нужно также собрать сложную систему сигнальных рецепторов, ионных каналов, синаптических пузырьков, стыковочных белков и других компонентов (см. главу 11). Аппарат синаптической передачи сигнала не мог бы существовать без молекул клеточной адгезии, прочно соединяющих пре- и постсинаптическую мембраны и помогающих удерживать все детали механизма передачи сигнала в их правильном положении. Так, кадгерины, как правило, сконцентрированы точно на периферии синапса, а также непосредственно в области взаимодействия мембран; то же касается белков суперсемейства иммуноглобулинов и других молекул адгезии. В действительности в клетках нервной системы позвоночных вырабатывается около 20 различных классических кадгеринов, причем в разных субпопуляциях нейронов они представлены в различных

комбинациях, и весьма вероятно, что селективное связывание этих молекул также играет роль в определении правильности партнера, с которым образован синапс.

Но как молекулы адгезии связаны с другими компонентами синапса и как они удерживают эти компоненты на своем месте? Считают, что здесь центральная роль принадлежит **белкам скэффолда**. Эти внутриклеточные молекулы состоят из серии белок-связывающих доменов, включающей, как правило, несколько **PDZ-доменов** — сегментов длиной около 70 аминокислотных остатков, которые могут распознавать и связывать С-концевые внутриклеточные хвосты определенных трансмембранных молекул (рис. 19.21). Один домен белка скэффолда может, например, связываться с белком межклеточной адгезии, другой сцепляется с ионным каналом-рецептором, а третий присоединяется к белку, который регулирует экзоцитоз и эндоцитоз либо обеспечивает связь с цитоскелетом. Более того, одна молекула белка скэффолда может связываться с другой. Таким образом, клетка может соткать целый «ковер» из белков, причем все компоненты, необходимые для синапса, будут вплетены в его ткань (рис. 19.22). Несколько сот различных типов белков участвует в образовании такой сложной структуры. Мутации в синаптических белках скэффолда изменяют размер и структуру синапса и могут иметь ощутимые последствия для функционирования нервной системы. Помимо прочего, такие мутации могут отрицательно сказываться на молекулярных механизмах, лежащих в основе обучения и памяти, которые зависят от способности электрической активности мозга оставлять долгий след в виде изменения архитектуры синаптических контактов.

Белки скэффолда, вместе с их многими потенциальными партнерами, принимают участие в образовании других структур и имеют иные функции, не связанные

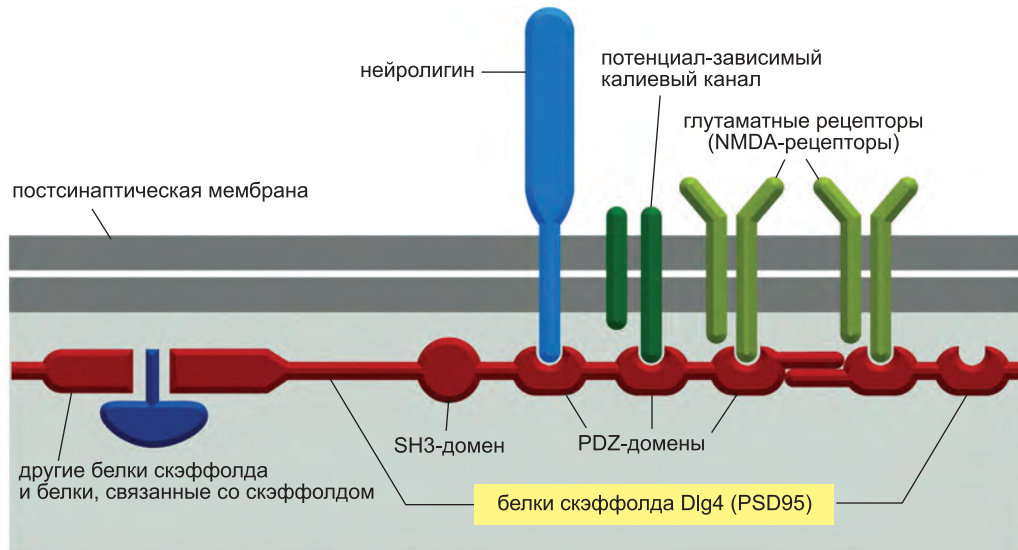


Рис. 19.21. Белок скэффолда. Представлена доменная структура белка млекопитающих Dlg4, гомолога белка Discs-large у дрозофилы, а также некоторых его лигандов. Dlg4 накапливается в синапсе, сразу за постсинаптической мембраной; поэтому он также известен как белок постсинаптического уплотнения PSD95 (postsynaptic density protein 95). С помощью своих многочисленных белок-связывающих доменов эта молекула соединяет различные составляющие синапса. Молекулы Dlg4 могут также связываться друг с другом и другими молекулами скэффолда, создавая обширную сеть, объединяющую все компоненты синапса. Кроме того, белкам скэффолда отведена важная роль и в других межклеточных контактах.

с синапсами и синаптической передачей. В качестве примера можно привести белок *Discs large (Dlg)* дрозофилы (см. рис. 19.21). Dlg необходим для построения нормальных синапсов; однако, как мы увидим, наряду с другими родственными белками скэффолда, он играет существенную роль практически во всех процессах

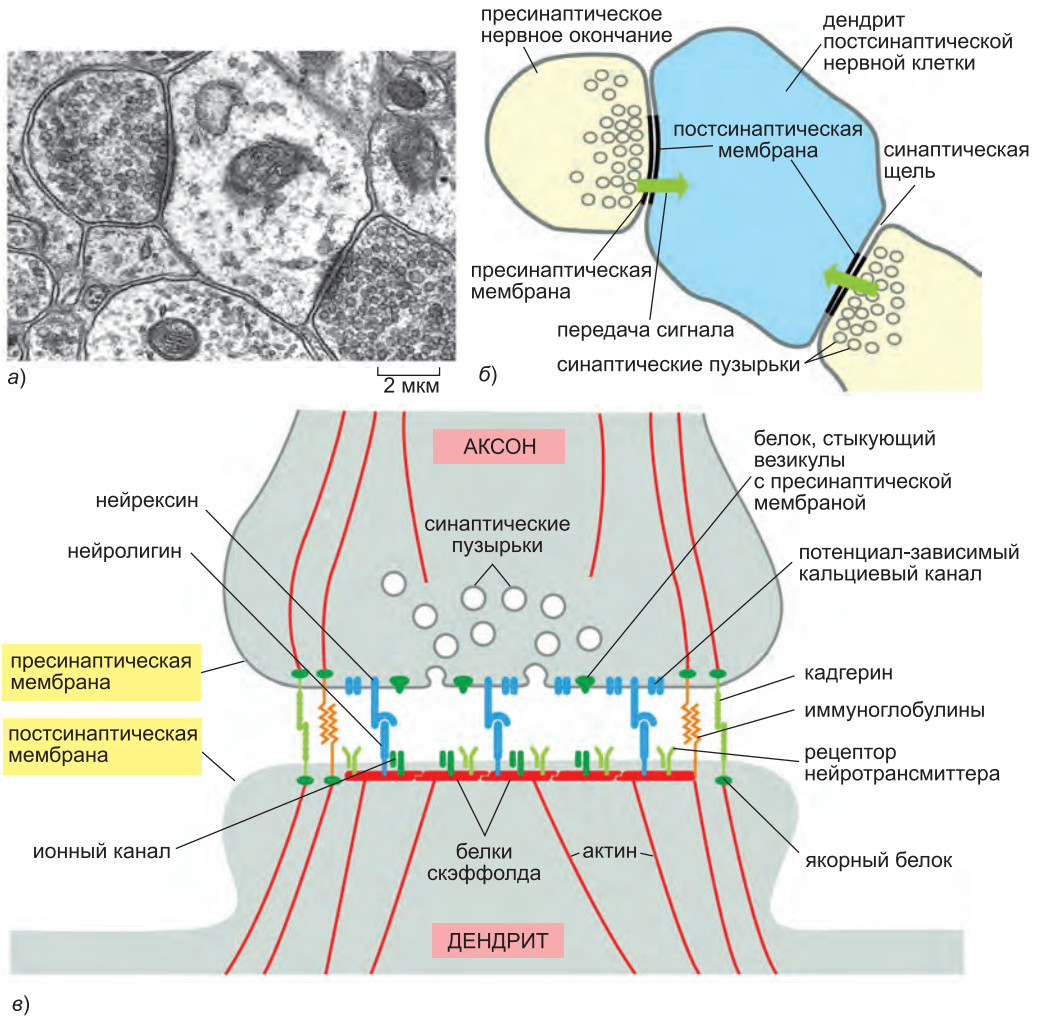


Рис. 19.22. Строение синапса. а) Электронная микрофотография и б) зарисовка поперечного среза через два нервных окончания, образующих синапс с дендритом в мозге млекопитающего. Обратите внимание, что синаптические пузырьки и электронно-плотный материал ассоциированы соответственно с пре- и постсинаптической мембранами. в) Схема, иллюстрирующая расположение некоторых компонентов такого соединения. Молекулы клеточной адгезии, в том числе кадгерины, нейролигины и нейрексыны, смыкают друг с другом пре- и постсинаптическую мембраны. Белки скэффолда формируют подложку (которой соответствует электронно-плотный материал на рисунке (а)), связывающую внутриклеточные домены молекул адгезии с компонентами синаптического механизма передачи сигнала, такими как ионные каналы и рецепторы нейротрансмиттеров. Подробная структура этого большого и сложного комплекса, состоящего из множества белков, окончательно не разрешена. Кроме того, здесь находятся сайты связывания для сотен дополнительных компонентов, включая молекулы цитоскелета, а также различные регуляторные киназы и фосфатазы (не показано). (Микрофотография любезно предоставлена Cedric Raine.)

организации эпителия. Помимо прочего, он формирует запирающие соединения между клетками, управляет полярностью клеток и даже отчасти контролирует их пролиферацию. Во всех этих процессах участвуют одни и те же механизмы как у плодовых мушек, так и у позвоночных.

Заключение

В эпителии, так же как в некоторых других тканях, клетки напрямую связаны друг с другом посредством прочных межклеточных контактов, в которых принимают участие трансмембранные белки, связанные внутри клетки с цитоскелетом. В адгезионных соединениях они связаны с актиновыми филаментами; в десмосомах — с промежуточными филаментами. В обоих этих случаях, а также во многих не столь распространенных типах межклеточных контактов, трансмембранные белки адгезии принадлежат суперсемейству кадгеринов. Как правило, кадгерини связываются друг с другом гомофильно: голова одной молекулы связывается с головой такой же или сходной молекулы кадгерина, находящейся на поверхности другой клетки. Такая селективность позволяет клеткам в смешанной популяции объединяться в группы в соответствии с тем, какой кадгерин они вырабатывают. Это помогает управлять перемещениями клеток в процессе онтогенеза, поскольку клетки на разных стадиях развития могут вырабатывать различные кадгерини. Изменение экспрессии кадгеринов может заставлять клетки переходить из сцепленного эпителиального состояния в разобщенное мезенхимальное, и наоборот, — это явление важно как в процессах индивидуального развития, так при развитии раковых заболеваний.

«Классические кадгерини» связаны с актиновым цитоскелетом с помощью внутриклеточных белков, называемых катенинами. Последние образуют заякоривающий комплекс на внутриклеточном хвосте молекулы кадгерина и участвуют не только в физическом прикреплении, но также и в генерации внутриклеточных сигналов. И наоборот, внутриклеточные сигналы могут регулировать формирование контактов с участием кадгеринов. β -катенин, к примеру, является также компонентом сигнального Wnt-пути.

Кроме кадгеринов, по крайней мере три других класса трансмембранных молекул также являются важными элементами межклеточной адгезии: это представители суперсемейств селектинов и иммуноглобулинов (Ig), а также интегрины. Селектины вырабатываются лейкоцитами, тромбоцитами и эндотелиальными клетками, они гетерофильно связываются с углеводными группами на поверхностях клеток. Они помогают захватывать в местах воспаления циркулирующие в кровотоке лейкоциты. Белки-представители суперсемейства иммуноглобулинов также играют свою роль в этом процессе, так же как и в других случаях формирования контактов; некоторые из них связываются гомофильно, некоторые — гетерофильно. Интегрины, по большей части служащие для прикрепления клеток к внеклеточному матриксу, могут также участвовать в образовании межклеточных контактов, связываясь с белками иммуноглобулинового суперсемейства.

Множество различных представителей Ig-суперсемейства, а также кадгерини и другие белки клеточной адгезии управляют формированием нервных соединений и удерживают рядом мембраны нейронов в синапсе. В этих сложных структурах, так же как в межклеточных контактах иных типов, внутриклеточные белки скэффолда, содержащие многократно повторенные белок-связывающие PDZ-домены,

играют важную роль в удержании многих молекул, участвующих в передаче сигнала и отвечающих за межклеточные соединения, в их правильном положении.

19.2. Плотные контакты и организация эпителия

Эпителиальный пласт, в котором клетки соединены бок о бок и покоятся на базальной мембране, может показаться высокоспециализированной структурой, однако именно на нем держится устройство любого многоклеточного организма. Действительно, более 60% типов клеток в теле позвоночного являются эпителиальными. Так же как клеточная мембрана окружает и изолирует внутренность эукариотической клетки, эпителий окружает и изолирует от внешней среды тело животного, выстилает все его поверхности и полости и образует внутренние компартменты, в которых происходят специализированные процессы. Не исключено, что эпителиальный пласт — одно из изобретений, с которых началась эволюция животных. Впоследствии появилось огромное множество вариантов этой структуры (как мы увидим в главе 23), сохраняющих, однако, общий принцип организации, основанный на консервативных молекулярных механизмах, присущих практически всем эпителиальным тканям.

По существу, все эпителии с одной (**базальной**) стороны связаны с соседней тканью и свободны с другой стороны, **апикальной**. Базальная мембрана лежит на границе с подстилающей тканью, опосредуя прикрепление к ней, в то время как апикальная поверхность эпителия, как правило, омывается внеклеточной жидкостью (иногда, правда, эта поверхность покрыта материалом, секретлируемым апикальными частями клеток). Таким образом, все эпителии структурно **поляризованы**. То же можно сказать и про отдельные эпителиальные клетки: их базальная часть, прикрепленная снизу к базальной мембране, отличается от апикальной части, доступной внешней среде.

Соответственно, все эпителии имеют как минимум одну общую функцию: они работают как селективные барьеры проницаемости, отделяющие жидкость, проникающую в ткань с базальной стороны, от жидкости иного химического состава, омывающей ткань с другой стороны. Эта барьерная функция требует, чтобы соседние клетки были спаяны вместе посредством **запирающих контактов** так, чтобы молекулы не могли свободно течь через пласт клеток. В этой главе мы рассмотрим, как формируются запирающие контакты и как поддерживается структурная поляризация эпителия. Эти два аспекта строения эпителия тесно связаны друг с другом: контакты играют ключевую роль в возникновении и поддержании поляризованного состояния клеток в эпителиальном пласте.

19.2.1. Плотные контакты образуют затвор между клетками и ограждение между областями мембраны

Запирающие соединения, обнаруженные в эпителии позвоночных, получили название **плотных контактов**. Их структура и функция показаны на примере эпителия тонкого кишечника (см. рис. 19.3). Этот эпителий называется однослойным призматическим эпителием и состоит из одного слоя высоких клеток (призматической формы). В нем есть клетки нескольких дифференцированных типов, однако среди них преобладают абсорбирующие клетки, специализированные для захвата питательных веществ из внутренней полости, или *просвета*, кишечника.

Абсорбирующим клеткам необходимо избирательно перекачивать питательные вещества сквозь эпителий из полости кишечника в межклеточную жидкость, пропитывающую соединительную ткань на другой стороне эпителиального пласта. Отсюда эти питательные вещества диффундируют в кровеносные сосуды, которые

обеспечивают ими организм. В таком *транsepителиальном переносе* участвуют две группы транспортных белков в плазматической мембране абсорбирующей клетки. Одна группа расположена на апикальной поверхности (обращенной в просвет кишечника) и активно переносит избранные молекулы из просвета в эпителиальные клетки; другая группа расположена на базолатеральных (базальных и латеральных) поверхностях клеток и позволяет тем же молекулам выходить из клеток, облегчая диффузию во внеклеточную жидкость по другую сторону эпителия. Для поддержания такого направленного транспорта щели между эпителиальными клетками должны быть закупорены так, чтобы транспортируемые молекулы не могли по этим щелям диффундировать обратно в полость кишечника (рис. 19.23). Помимо того,

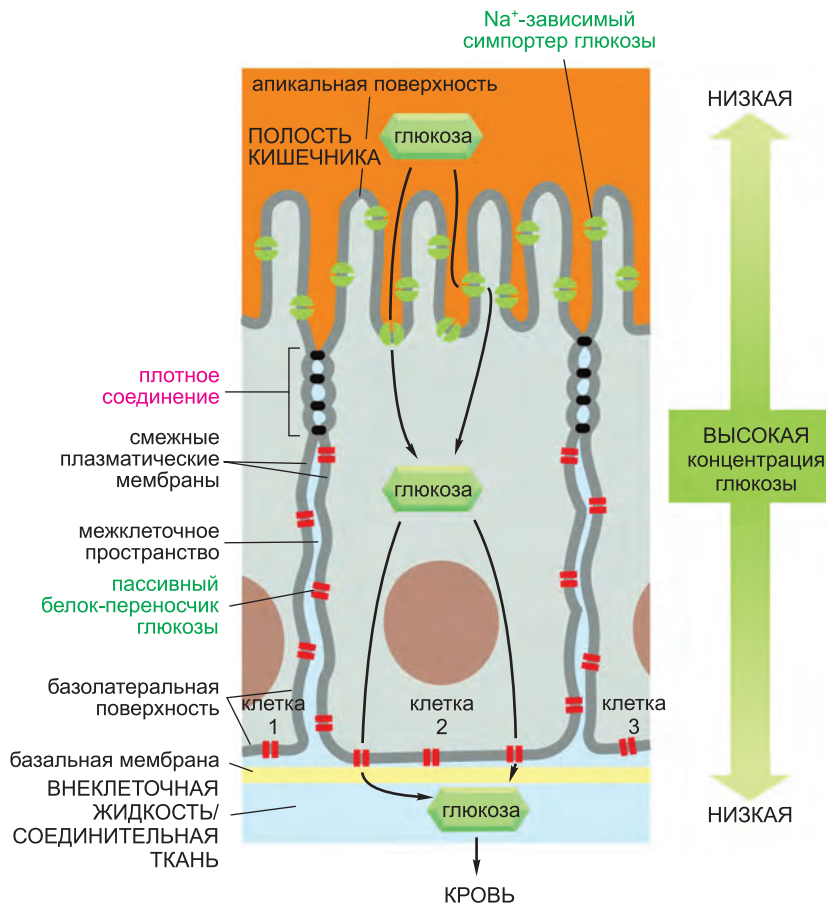


Рис. 19.23. Роль плотных контактов в транsepителиальном переносе веществ. В клетках эпителия тонкого кишечника белки могут перемещаться лишь в пределах своей ограниченной области плазматической мембраны. Подобное разделение способствует направленному транспорту питательных веществ через эпителий из полости кишки в кровь. На рисунке приведен пример, в котором глюкоза активно закачивается в клетку при помощи Na^+ -зависимых симпортеров, находящихся на апикальной поверхности. Затем глюкоза выходит из клетки по механизму облегченной диффузии, опосредованной переносчиками глюкозы на базолатеральной стороне клетки. Считают, что плотные контакты ограничивают миграцию транспортных белков, действуя как диффузионный барьер, и подобны «изгородям», стоящей посреди липидного бислоя плазматической мембраны; кроме того, эти контакты препятствуют обратному потоку глюкозы с базальной стороны эпителия в просвет кишечника.

белки-насосы и белки-каналы должны быть надлежащим образом распределены в мембране: необходимо, чтобы апикальные активные транспортные белки отправлялись в область апекса (см. главу 13) и не могли переходить на базолатеральную поверхность, а белки-каналы базолатеральной группы располагались на базолатеральной поверхности и не имели возможности диффундировать на апикальную поверхность. Плотные контакты между эпителиальными клетками, помимо того что герметизируют пространство между клетками, служат «изгородью», разделяющей области на плазматической мембране каждой клетки, предотвращая диффузию апикальных белков (и липидов) в базальную область, и наоборот (см. рис. 19.23).

Запирающую функцию плотных контактов легко показать экспериментально: меченое низкомолекулярное соединение, введенное по одну сторону эпителия, как правило, не проходит через плотное соединение (рис. 19.24). Однако это препятствие не абсолютно. Несмотря на то что все плотные контакты непроницаемы для макромолекул, их проницаемость для малых молекул сильно различается у разных эпителиев. Например, в эпителии, выстилающем тонкий кишечник, плотные контакты в 10 000 раз более проницаемы для неорганических ионов, таких как Na^+ , чем в эпителии мочевого пузыря. Эти различия отражают различия в белках, формирующих соединения.

Эпителиальные клетки могут также временно изменять свойства своих плотных контактов, обеспечивая усиленный ток растворимых веществ и воды сквозь бреши в барьере. Подобный параллельный транспорт особенно важен при поглощении аминокислот и моносахаридов из полости кишечника, где концентрация этих веществ после приема пищи может увеличиться настолько, чтобы пассивный транспорт шел в нужном направлении.

По данным электронной микроскопии с применением метода замораживания-скальвания, плотные контакты представляют собой сеть из ветвящихся гермети-

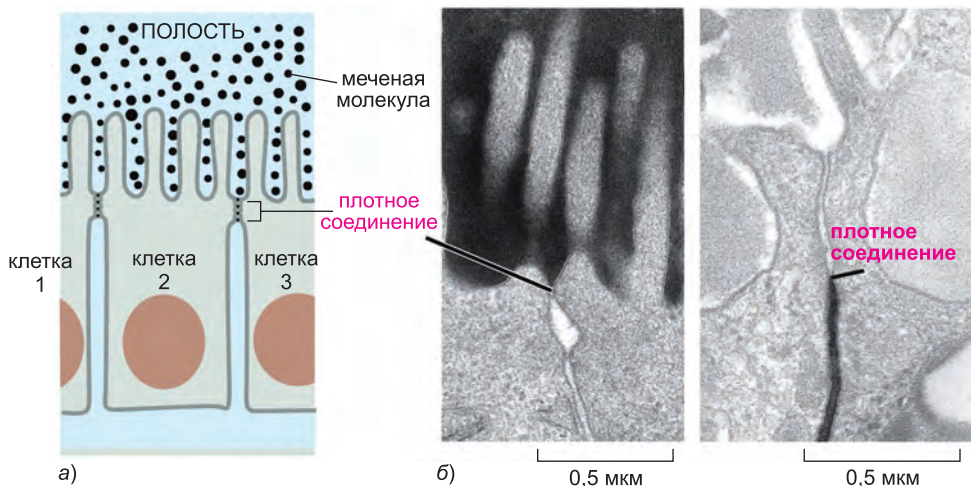


Рис. 19.24. Свойства плотных соединений, благодаря которым эпителий служит диффузионным барьером для водорастворимых веществ. а) Показано, что малая растворимая меченая молекула, введенная по одну сторону эпителиального слоя, не может пройти через плотные соединения, скрепляющие соседние клетки. б) Электронная микрофотография клеток эпителия при введении малой молекулы, меченой электронно-плотным красителем, с апикальной стороны (слева) и со стороны базолатеральной поверхности (справа). В обоих случаях плотное соединение блокирует перенос метки с одной стороны на другую. (Микрофотографии любезно предоставлены Daniel Friend.)

зирующих цепочек, которая оплетает апикальный конец каждой клетки по всей его окружности (рис. 19.25, а и б). На обычных электронных микрофотографиях внешние листки двух взаимодействующих плазматических мембран выглядят сомкнутыми в тех местах, где проходят герметизирующие цепочки (рис. 19.25, в). Каждая цепочка состоит из серии трансмембранных белков адгезии, находящихся в каждой из взаимодействующих плазматических мембран. Внеклеточные домены этих белков напрямую сцепляются друг с другом, перегораживая межклеточное пространство (рис. 19.26).

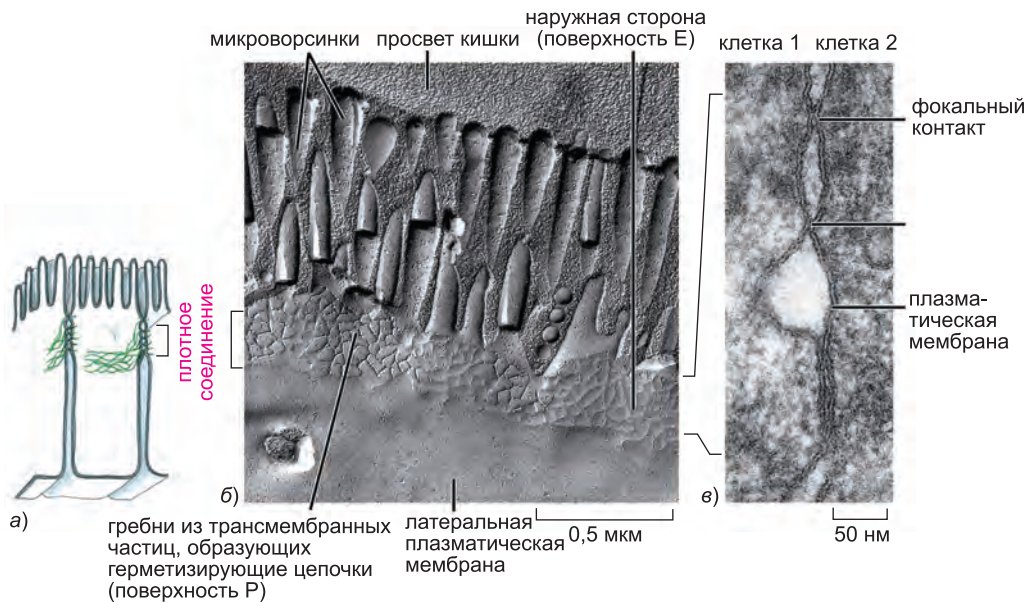


Рис. 19.25. Структура плотного соединения между эпителиальными клетками тонкой кишки. а) Схема. б) Электронная микрофотография препарата, полученного методом замораживания-скальвания. в) Обычная электронная микрофотография. На фото (б) плоскость микрофотографии параллельна плоскости мембраны; видно, что плотное соединение образовано сетью из герметизирующих цепочек, опоясывающей каждую клетку в пласте. Эти герметизирующие цепочки видны как гребни из внутримембранных частиц на внутренней (цитоплазматической) поверхности скола (поверхность Р) или как комплементарные им бороздки на наружной поверхности мембраны (поверхность Е). На обычном препарате (в) соединение выглядит как серия фокальных контактов между наружными липидными слоями двух смежных мембран; каждый такой контакт соответствует герметизирующей цепочке в поперечном разрезе. (б и в из N. V. Gilula, в книге: Cell Communication [R. P., Cox, ed.], pp. 1–29. New York: Wiley, 1974.)

Основными трансмембранными белками, формирующими эти волокна, являются *клаудины*, необходимые для образования и функционирования плотных соединений. Например, у мышей, у которых отсутствует ген *клаудин-1*, не образуются плотные контакты между клетками в эпидермальном слое кожи; в результате этого новорожденные мыши быстро теряют воду, испаряющуюся через кожу, и погибают в течение суток. И наоборот, если неэпителиальные клетки, такие как фибробласты, заставить вырабатывать клаудин, они будут формировать плотные соединения друг с другом. В норме в плотном соединении участвует еще один трансмембранный белок, *окклюдин*, однако функция этого белка еще не ясна, и,

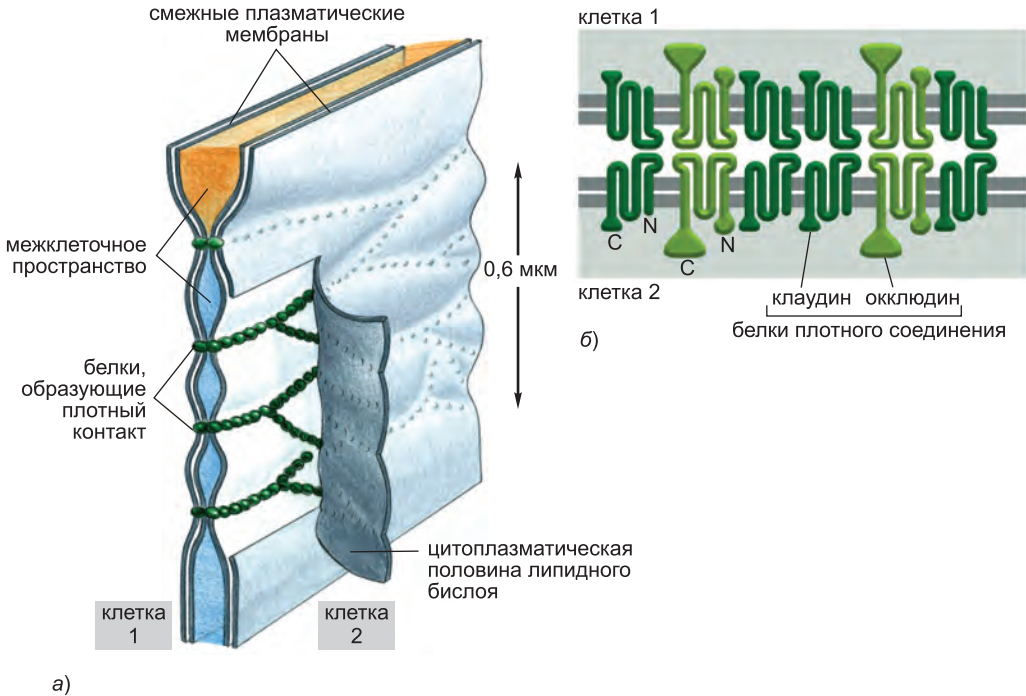


Рис. 19.26. Современная модель строения плотного контакта. а) Предположительно, смежные плазматические мембраны скреплены непрерывными цепочками из особых трансмембранных белков, осуществляющих контакт через межклеточное пространство и образующих герметичное соединение. б) Молекулярный состав герметизирующей цепочки. Главными функциональными компонентами являются клаудины; роль окклюдинов не ясна.

судя по всему, он не столь важен, как клаудины. Третий трансмембранный белок, *трицеллюлин* (родственный окклюдину), необходим для сшивания мембран клеток и предотвращения утечки через эпителий.

В семействе клаудинов много разных белков (у человека их 24), и они вырабатываются в различных комбинациях в разных эпителиях, поэтому каждый эпителиальный пласт имеет особые свойства проницаемости. Предполагают, что они образуют *межклеточные поры* — селективные каналы, позволяющие определенным ионам пересекать барьер, сформированный плотным соединением, с одной стороны на другую. Например, особый клаудин, обнаруженный в эпителии почек, необходим для того, чтобы Mg^{2+} мог проходить между клетками эпителиального пласта и попадать из мочи обратно в кровь при реабсорбции. Мутация в гене, кодирующем этот клаудин, приводит к большим потерям Mg^{2+} с мочой.

19.2.2. Белки скэффолда в соединительных комплексах играют ключевую роль в управлении пролиферацией клеток

Образуя сеть герметизирующих цепочек, клаудины и окклюдины занимают определенное место в клетке. Эта сеть обычно находится чуть апикальнее адгезионных контактов и десмосом, механически связывающих клетки, и вся совокупность этих контактов называется соединительным комплексом (рис. 19.27). Компоненты

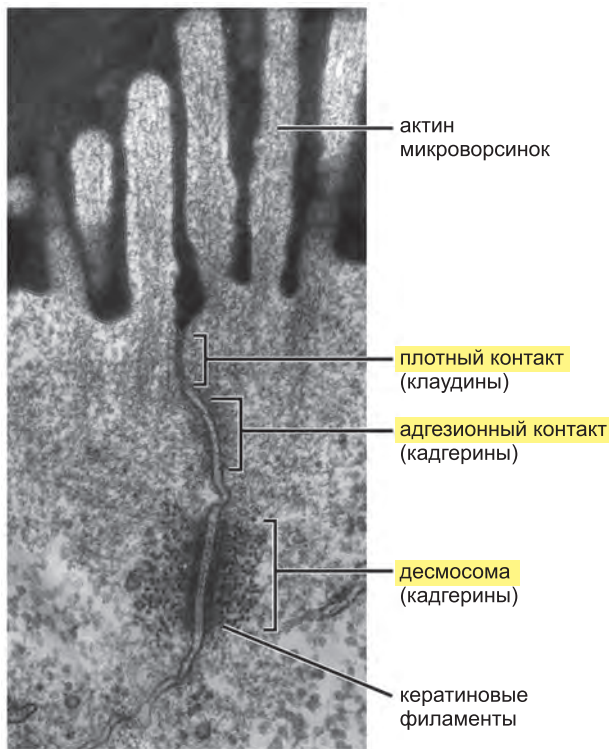


Рис. 19.27. Контакты между двумя эпителиальными клетками выстилки тонкой кишки. Ближе всего к апикальной поверхности находятся плотные контакты; под ними располагаются адгезионные соединения, еще ниже — десмосомы. Такой порядок характерен для позвоночных; у насекомых контакты располагаются по-другому. (Микрофотография любезно предоставлена Daniel S. Friend.)

этого комплекса формируются согласованно. Так, например, антитела к кадгерину, подавляющие образование адгезионных контактов, также блокируют формирование плотных соединений. Считают, что в размещении плотных соединений относительно других структур участвуют внутриклеточные белки скэффолда, принадлежащие семейству *Tjp* (*Tight junction protein*, белок плотного соеди-

нения), также называемые ZO-белки (от лат. *zonula occludens* — замыкающая пластинка; так иначе называется плотное соединение). *Tjp*-белки позвоночных принадлежат к тому же семейству, что и белки *Discs-large*, упоминавшиеся нами раньше в связи с их участием в формировании синапса, и прикрепляют герметизирующие цепочки к другим компонентам, включая актиновый цитоскелет.

У беспозвоночных, например насекомых или моллюсков, запирающие контакты выглядят по-другому и носят название **септированных контактов**. Подобно плотным соединениям, эти контакты образуют непрерывную полосу вокруг каждой эпителиальной клетки, но отличаются более регулярной структурой, а взаимодействующие плазматические мембраны соединяются с помощью белков, расположенных параллельными рядами с постоянным интервалом (рис. 19.28). Тем не менее основные белки септированных соединений гомологичны клаудинам позвоночных и взаимодействуют с белками скэффолда подобным же образом. Среди них, в частности, тот самый белок *Discs-large*, участвующий в образовании синапса. Мутантные плодовые мушки, недостаточно вырабатывающие *Discs-large*, образуют дефектные септированные соединения.

Что удивительно, у этих мутантов, кроме того, в эпителии образуются опухоли: у них сильно разрастаются имагинальные диски — личиночная структура, из которой потом развивается большая часть тела зрелой мушки (см. главу 22). Ген получил свое название именно по этому замечательному эффекту. Причина же его состоит в том, что на белке *Discs-large* имеются сайты связывания регуляторов роста. Но зачем нужна подобная связь аппарата клеточной адгезии с механизмами управления пролиферации клеток? Похоже, это имеет фундаментальное значение: у позвоночных белки, гомологичные *Discs-large*, также выполняют эти две функции.

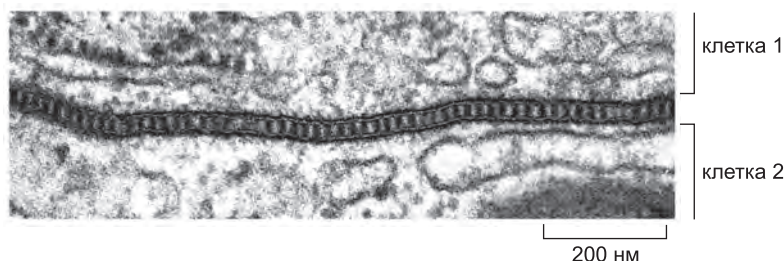


Рис. 19.28. Септированный контакт. Электронная микрофотография септированного соединения между двумя эпителиальными клетками моллюска. Смежные плазматические мембраны (ориентированные перпендикулярно плоскости среза) скреплены параллельными рядами соединительных белков. Эти ряды, расстояние между которыми постоянно, видны как электронно-плотные полосы и формируют септу. (Из N. B. Gilula, в книге: *Cell Communication* [R.P., Cox, ed.], pp. 1–29. New York: Wiley, 1974.)

Возможно, что подобные белки являются частью основного механизма репарации и поддержания эпителия. Если эпителиальная клетка теряет контакты со своими соседями, запускается ее программа роста и деления, и тем самым возникают новые клетки, способные восстановить непрерывность многоклеточного пласта. На самом деле, очень многое указывает на то, что соединительные комплексы очень важны для передачи сигнала от клетки к клетке, и не только через Discs-large, но и через другие компоненты этих структур, в том числе, как мы знаем, и кадгерины.

19.2.3. Межклеточные контакты и базальная мембрана управляют апикально-базальной полярностью клеток

Большинство клеток животных тканей имеют выраженную поляризацию: либо их передний край отличается от заднего, либо верхняя часть — от нижней. В качестве примера можно привести, как мы говорили, почти любую эпителиальную клетку, нейроны с их дендритами и аксонами, мигрирующие фибробласты и лейкоциты, у которых есть локомоторная передняя часть и тянущийся за ней задний край, и многие зародышевые клетки в момент подготовки к несимметричному делению, в результате которого дочерние клетки будут отличаться друг от друга. Существует основной набор компонентов, необходимых для возникновения полярности клеток во всех этих случаях, и он един для всего животного царства, от червей до млекопитающих.

В случае эпителиальных клеток эти фундаментальные «генераторы полярности» должны сформировать отличающиеся друг от друга апикальный и базальный полюса, причем сделать это в правильной ориентации, в соответствии с окружением клетки. Основные события, происходящие при этом, хорошо описывают эксперименты с культурой клеток MDCK (рис. 19.29, а). Эти клетки можно отделить друг от друга и культивировать в суспензии в коллагеновом геле. Одиночная изолированная клетка в таких условиях не обладает какой-либо полярностью, однако если позволить этой клетке делиться, то она вскоре сформирует колонию клеток в виде полого эпителиального пузырька, и полярность каждой клетки в нем станет хорошо заметной. Пузырек окружается базальной мембраной, и все клетки ориентируются одинаково, причем их апикальные молекулы-маркеры обращены внутрь. Очевидно, что клетки MDCK имеют внутреннюю тенденцию поляризоваться, однако механизм кооперативен, и результат зависит от контактов с соседними клетками.

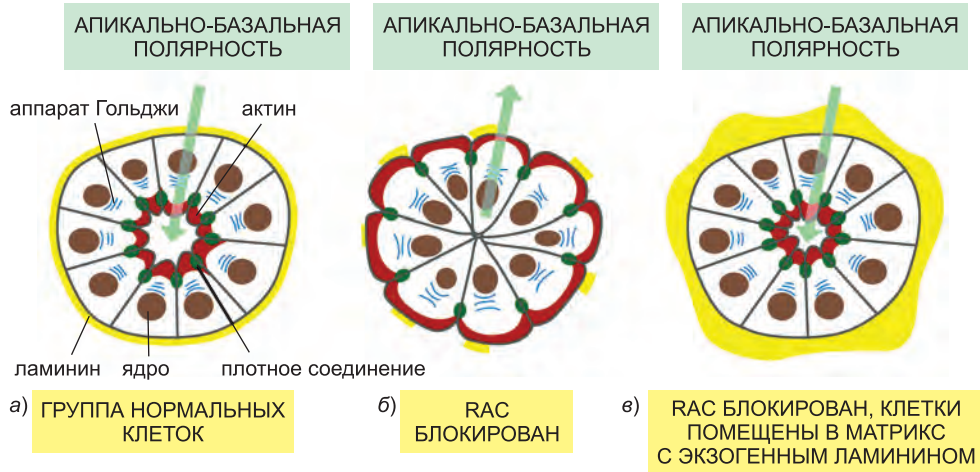


Рис. 19.29. Согласованная поляризация группы эпителиальных клеток в культуре и участие Ras и ламинина в этом процессе. Клетки линии MDCK в суспензии, полученные из почечного эпителия собаки, помещены в коллагеновый матрикс, в котором могли пролиферировать, образуя небольшие изолированные колонии. Эти колонии схематично показаны здесь в разрезе. *а*) Клетки такой колонии в норме спонтанно образуют эпителиальный пузырек с полостью внутри. С помощью окрашивания на актин (при этом окрашиваются апикальные микроворсинки), на белок ZO1 (белок плотного соединения), на аппарат Гольджи и на ламинин (компонент базальной мембраны) можно показать, что все клетки приобрели полярность, причем их апикальная поверхность обращена в полость, а базальные части соприкасаются с окружающим пузырек коллагеновым гелем. *б*) Функционирование Ras невозможно, если экспрессируется доминантно-негативная форма белка. Это приводит к тому, что клетки приобретают обратную полярность, не способны образовывать полый пузырек и почти не откладывают ламинин на периферии колонии, как это делают нормальные клетки. *в*) Если пузырек помещен в матрикс с большим содержанием экзогенного ламинина, то клетки приобретают практически нормальную полярность даже в том случае, когда Ras не функционирует. (По L. E. O'Brien et al., *Nat. Cell Biol.* 3: 831–838, 2001. С разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

Чтобы выяснить, как работает молекулярный механизм, лежащий в основе процесса, нужно прежде всего идентифицировать его компоненты. Больше всего сведений дали исследования, выполненные на черве *C. elegans* и дрозофиле. В случае червя скрининг мутаций, нарушающих процессы пространственной организации клеток зародыша, выявил ряд генов, ответственных за нормальную полярность клеток и асимметричное деление (см. главу 22). Среди них имеется как минимум шесть так называемых *Par* (*partitioning defective*) генов. У исследованных видов животных эти гены и их гомологи (наряду с другими генами, открытыми в исследованиях на дрозофиле и позвоночных) играют фундаментальную роль не только в асимметричном делении клеток зародыша на ранних стадиях развития, но во многих других процессах, связанных с поляризацией клеток, включая поляризацию эпителиальных клеток. Например, ген *Par4* у *C. elegans* гомологичен гену *Lkb1* млекопитающих и дрозофиле и кодирует серин-треониновую киназу. В случае плодовой мушки мутации в этом гене нарушают полярность яйцеклетки и клеток эпителия. У человека такие мутации приводят к *наследственному полипозу кишечника (синдрому Пейтца – Егерса)*, при котором клетки кишечного эпителия растут беспорядочно и имеется предрасположенность к некоторым редким

видам рака. Если не давать человеческим клеткам эпителия толстого кишечника в культуре вырабатывать LKB1, они не приобретут нормальной полярности. С другой стороны, если такие клетки в культуре заставить вырабатывать слишком много LKB1, они становятся полярными даже будучи изолированы от других клеток и со всех сторон окружены однородной средой (рис. 19.30). Это говорит о том, что за нормальную полярность отвечают два взаимосвязанных механизма: благодаря одному из них клетка сама по себе стремится стать полярной, а второй механизм направляет ее ось полярности в соответствии с расположением соседних клеток и базальной мембраны. Второй механизм, вероятно, характерен именно для эпителия, а первый, возможно, более распространен и действует также и в других клетках, обладающих полярностью.

Молекулы, которые, как известно, необходимы для установления полярности эпителиальных клеток, можно классифицировать согласно этим двум механизмам. Как правило, основными в этом процессе являются три связанных с мембраной белка: **Par3**, **Par6** и **атипичная протеинкиназа C (aPKC)**. Par3 и Par6 представляют собой белки скэффолда, содержащие PDZ-домены, и они связываются друг с другом и с aPKC. Комплекс из этих трех компонентов также имеет сайты связывания различных молекул, включая малые GTPазы Ras и Cdc42. Последние имеют большое значение. Так, например, если в группе клеток MDCK блокирована активность Ras, то клетки развиваются с обратной полярностью (см. рис. 19.29, б). Ras и Cdc42 являются ключевыми регуляторами сборки актина, см. главу 16; похоже, что благодаря им сборка комплекса Par3-Par6-aPKC в некоторой области кортикального слоя клетки связана с поляризацией цитоскелета по направлению к этой области. Процесс сборки, очевидно, кооперативен и характеризуется петлей положительной обратной



Рис. 19.30. Поляризация отдельной эпителиальной клетки. В культивируемые клетки кишечного эпителия ввели рекомбинантную ДНК, кодирующую регуляторные компоненты, запускающие или блокирующие активность белка LKB1 в зависимости от состава культуральной среды. При низкой активности LKB1 клетки остаются неполярными; при его активации каждая клетка, независимо от других, приобретает полярность. Полярность проявляется в распределении белков плотного соединения (ZO1) и белков адгезионных контактов (p120-катенина), аккумулирующихся на одной стороне клетки: они располагаются вокруг микроворсинок, снабженных актиновыми филаментами. При этом распределение белков полярно даже в том случае, если клетки изолированы друг от друга и между ними нет контактов. Такая автономная поляризация происходит даже при культивировании в суспензии, без всякого контакта с субстратом, который мог бы их ориентировать. (Из А. F. Baas et al., *Cell* 116: 457-466, 2004. С разрешения издательства Elsevier.)

связи и передачей сигналов в пространстве, так что небольшая начальная группа этих компонентов способна стимулировать дальнейшее образование комплексов в этой области и подавить их формирование в других местах. Положительная обратная связь может действовать через белки Cdc42 и Rac: высокая активность этих молекул в какой-то точке, способствуя перестройке цитоскелета, может побуждать системы внутриклеточного транспорта доставлять в эту точку еще больше Cdc42 или Rac либо транспортировать туда их активаторы. Подозревают, что именно так, по существу, работает механизм приобретения полярности в клетках почкующихся дрожжей, и возможно, что таким образом клетки, подобные мигрирующим фибробластам, устанавливают различие между ведущим краем и остальной частью клетки. Скорее всего, в этом заключается суть механизма поляризации эукариотической клетки, по крайней мере в эволюционном смысле.

Судя по всему, комплекс Par3-Par6-aPKC, вместе с Cdc42 и Rac, контролирует образование других белковых комплексов, связанных с внутренней поверхностью клеточной мембраны. В частности, в эпителиальных клетках он заставляет комплекс *Crumbs*, скрепленный PDZ-белками скэффолда Discs-large и Stardust, локализоваться ближе к апексу клетки, а третий подобный комплекс, называемый *Scribble*, организующим звеном в котором служат белки скэффолда Scribble и Discs-large (тот самый, о котором мы уже говорили), оказывается локализованным ближе к базальной части (рис. 19.31). Вопрос о том, как различные белковые комплексы взаимодействуют между собой и с другими компонентами клетки, только начинает проясняться.

Но что заставляет всю эту отлаженную систему правильно ориентироваться относительно своих соседей? В эпителии комплекс Par3-Par6-aPKC собирается в области межклеточных контактов: у позвоночных — вблизи плотных соединений, у дрозофилы — вблизи адгезионных контактов, так как белки скэффолда, входящие в состав комплекса, связываются с хвостами определенных трансмембранных белков

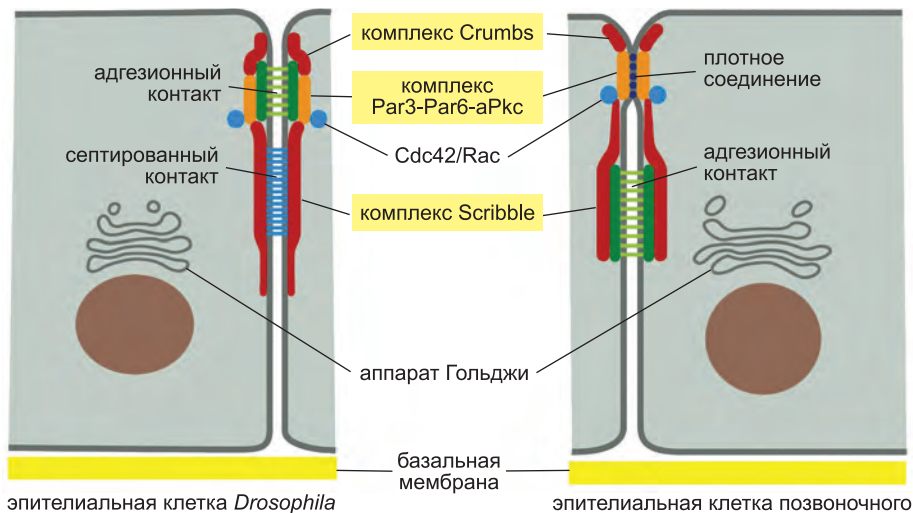


Рис. 19.31. Расположение трех связанных с мембраной белковых комплексов, играющих главную роль в определении полярности клеток эпителия. Слева схематично нарисована эпителиальная клетка дрозофилы, справа — позвоночного. Все три комплекса: Par3-Par6-aPKC, Crumbs и Scribble, крепятся к белкам скэффолда, содержащим PDZ-домены. Распределение комплексов в клетках различных типов несколько отличается.

адгезии. Тем временем цитоскелет, под влиянием Rac или сходных с ним белков, налаживает доставку компонентов базальной мембраны на другой конец клетки. Эти молекулы внеклеточного матрикса затем снова воздействуют на клетку, придавая ближайшему к ним участку клетки свойства базальной области (см. рис. 19.29, в). Таким образом, полярность клетки сопряжена с ее ориентацией в эпителиальном пласте и с ее расположением относительно базальной мембраны.

19.2.4. Отдельная сигнальная система контролирует плоскостную полярность клеток

Апикально-базальная полярность — универсальная характеристика эпителия, однако клетки некоторых эпителиев обладают дополнительной полярностью, ось которой перпендикулярна обычной оси полярности, как если бы на клетках нарисована стрелка, направленная в определенную сторону в плоскости эпителиального слоя. Полярность такого типа называется **плоскостной полярностью клеток** (рис. 19.32, а и б). На крыле плодовой мушки, к примеру, каждая эпителиальная клетка имеет на своей поверхности слегка несимметричный отросток, называемый волоском крыла, и все волоски направлены на вершину крыла. Аналогично во внутреннем ухе позвоночных каждая волосковая клетка-механосенсор имеет асимметричный пучок стереоцилий (палочковидные выросты, содержащие актин), растущих из ее апикальной поверхности: изгиб пучка в одном направлении вызывает открытие каналов, приводя к электрической стимуляции клетки, изгиб в противоположном направлении оказывает противоположное действие. Чтобы слуховой анализатор работал правильно, волосковые клетки должны быть

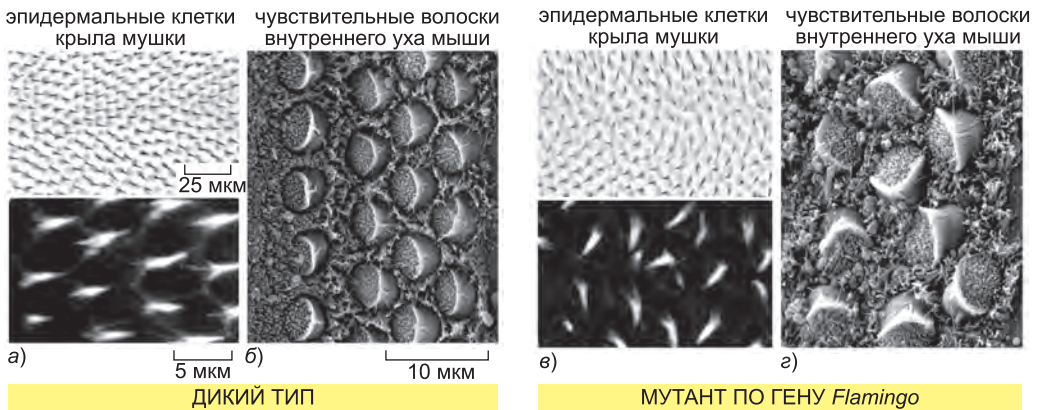


Рис. 19.32. Плоскостная полярность клеток. а) Волоски на крыле мушки. У каждой клетки эпителия крыла на апикальной поверхности имеется такой заостренный отросток, или «волосок», причем все волоски направлены одинаково, к вершине крыла. Это отражает плоскостную полярность каждой клетки. б) Чувствительные волосковые клетки тоже полярны в плоскости. Это проявляется в согласованной ориентации их стереоцилий (отростков, снабженных актиновыми филаментами). Адекватное восприятие звука невозможно, если волосковые клетки ориентированы неправильно. в) Мутация в гене *Flamingo* плодовой мушки, кодирующем неклассический кадгерин, нарушает ориентацию волосков крыла. г) У мышей мутация гена, кодирующего белок-гомолог *Flamingo*, приводит к беспорядочной ориентации волосковых клеток внутреннего уха; такие мыши не слышат. (а и в — из J. Chae et al., *Development* 126: 5421–5429, 1999. С разрешения The Company of Biologists; б и г — из J. A. Curtin et al., *Curr. Biol.* 13: 1129–1133, 2003. С разрешения издательства Elsevier.)

правильно ориентированы. Плоскостная полярность клеток важна также, например, в дыхательных путях, где биение каждой реснички должно гнать мокроту из легких наружу, а не наоборот.

В результате скрининга мутантов дрозофилы с беспорядочно расположенными крыльевыми волосками идентифицировали группу генов, отвечающих за плоскостную поляризацию у плодовой мушки. Некоторые из них, такие, как например, *Frizzled* и *Dishevelled*, кодируют белки, которые, как оказалось, участвуют в сигнальном Wnt-пути (см. главу 15). Два других гена, *Flamingo* (см. рис. 19.31, в) и *Dachsous*, кодируют белки из суперсемейства кадгеринов. Функцию остальных генов не так просто определить, однако очевидно, что они участвуют в механизмах установления плоскостной полярности. Белки, кодируемые этими генами, собираются в комплексы вблизи межклеточных контактов, так что поляризующее влияние может распространяться от клетки к клетке. Та же, по существу, система белков управляет возникновением плоскостной полярности у позвоночных. Например, у мышей, мутантных по гомологу *Flamingo*, волосковые клетки во внутреннем ухе ориентированы неправильно (помимо прочих нарушений), и поэтому такие мыши не слышат (см. рис. 19.32, г).

Заключение

Запирающие соединения: плотные контакты у позвоночных, септированные контакты у насекомых и моллюсков, перекрывают пространство между клетками эпителия и не дают молекулам переходить с одной стороны пласта клеток на другую. Они также препятствуют перемещению белков в мембране, тем самым помогая поддерживать различие между популяциями белков в апикальной и базолатеральной частях мембраны эпителиальной клетки. Основные трансмембранные белки, формирующие запирающие соединения, носят название клаудинов; различные представители этого семейства вырабатываются в разных тканях, обеспечивая различные свойства проницаемости разнообразных эпителиальных пластов.

*Внутриклеточные белки скэффолда связываются с трансмембранными компонентами в области запирающих соединений и обеспечивают координацию этих структур с кадгериновыми прикрепительными контактами, образуя таким образом соединительные комплексы. Эти белки скэффолда имеют как минимум еще две важные функции. Они играют роль в управлении пролиферацией эпителиальных клеток, а также, совместно с другими регуляторными молекулами, например *Rac* и *Cdc42*, управляют полярностью клеток. Эпителиальные клетки имеют внутреннюю тенденцию становиться полярными в апикально-базальном направлении. В определении ориентации оси полярности по отношению к клеткам-соседям в эпителиальном пласте участвуют белковые комплексы, включающие белки скэффолда, собирающиеся в области межклеточных контактов. Кроме того, на ориентацию оси оказывает влияние поляризация цитоскелета, управляемая парой *Rac/Cdc42*, а также базальная мембрана.*

Клетки некоторых эпителиальных тканей дополнительно поляризованы в плоскости эпителия, в направлении перпендикулярном апикально-базальной оси. Отдельная группа консервативных белков, действующих сходным образом у позвоночных и у насекомых, управляет возникновением этого вида полярности по плохо изученному сигнальному механизму, который также связан с межклеточными контактами.

19.3. Пути перехода веществ из клетки в клетку: щелевые контакты и плазмодесмы

Плотные контакты не дают веществам проходить между клетками эпителия, предотвращая проникновение внеклеточных молекул с одной стороны на другую. Другой тип соединительных структур несет противоположную функцию: это своеобразные «мостики» через межклеточные пространства, по которым вещества могут переходить из клетки в клетку. Эти мостики у животных (*щелевые контакты*) и у растений (*плазмодесмы*) устроены совершенно по-разному. Однако в обоих случаях функции схожи: такие контакты позволяют соседним клеткам обмениваться небольшими молекулами, но не макромолекулами (в случае плазмодесм есть несколько исключений). Значение такого сопряжения клеток, по большому счету, только начинает проявляться.

19.3.1. Щелевые контакты обеспечивают электрическое и метаболическое сопряжение клеток

Щелевые контакты присутствуют в большинстве тканей животных, включая, наряду с эпителиями, соединительные ткани, и позволяют клеткам общаться друг с другом. На микрофотографиях щелевого контакта можно различить две мембраны, разделенные зазором постоянной ширины в 2–4 нм. Этот зазор пронизывают каналобразующие белки, принадлежащие к двум разным семействам, а именно коннексины и иннексины. Несмотря на различие аминокислотных последовательностей, белки этих семейств имеют сходную форму и выполняют одинаковую функцию. У позвоночных известны белки обоих семейств, однако семейство коннексинов обширнее и у человека включает 21 белок. У дрозофилы и *C. elegans* присутствуют только иннексины, у плодовой мушки это семейство объединяет 15 белков, а в случае червя — 25.

Каналы, сформированные белками щелевого контакта, позволяют неорганическим ионам и другим водорастворимым молекулам проходить из цитоплазмы одной клетки в цитоплазму другой, тем самым обеспечивая как электрическое, так и метаболическое сопряжение клетки. Так, если ввести в одну клетку подходящий краситель, он беспрепятственно переходит в соседнюю клетку, не выходя в межклеточное пространство. Аналогично, электрический ток, приложенный к одной клетке, незамедлительно вызывает электрическое возмущение в соседней клетке благодаря току заряженных частиц — ионов — через щелевые контакты. Если ввести микроэлектроды в обе клетки, можно без труда наблюдать этот эффект и даже измерить некоторые свойства щелевых контактов, например, электрическое сопротивление, а также зависимость величины сопряжения от различных факторов. Одними из первых существование щелевых контактов показали электрофизиологи, продемонстрировав быстрое и прямое электрическое сопряжение между нейронами некоторых типов. Аналогичным образом было установлено, что щелевые коммуникации опосредуются коннексинами: если мРНК коннексинов ввести в яйцеклетку лягушки либо в культуру клеток, лишенных щелевых контактов, то между такими клетками, соединенными попарно, образуются каналы с ожидаемыми для щелевого контакта свойствами, что можно продемонстрировать электрофизиологически.

По данным экспериментов с введением молекул красителя разных размеров, диаметр поры такого канала не превышает 1,5 нм. Таким образом, сопряженные клетки могут обмениваться своими низкомолекулярными веществами (такими как

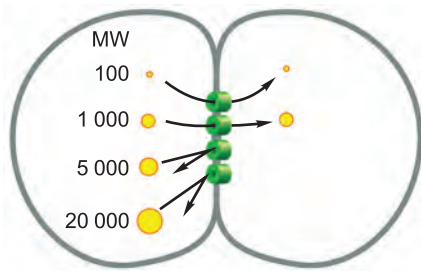


Рис. 19.33. Определение диаметра межклеточного канала щелевого соединения. Если в одну из двух клеток, соединенных щелевым контактом, ввести флуоресцирующие молекулы разной величины, то в другую клетку будут переходить лишь те из них, у которых молекулярная масса не превышает примерно 1000 дальтон, а более крупные проходить не будут. MW — молекулярная масса.

неорганические ионы, сахара, аминокислоты, нуклеотиды, витамины и внутриклеточные медиаторы: сАМР и инозитолтрифосфат), но не макромолекулами (то есть белками, нуклеиновыми кислотами и полисахаридами) (рис. 19.33).

19.3.2. Коннекцион щелевого контакта состоит из шести трансмембранных субъединиц

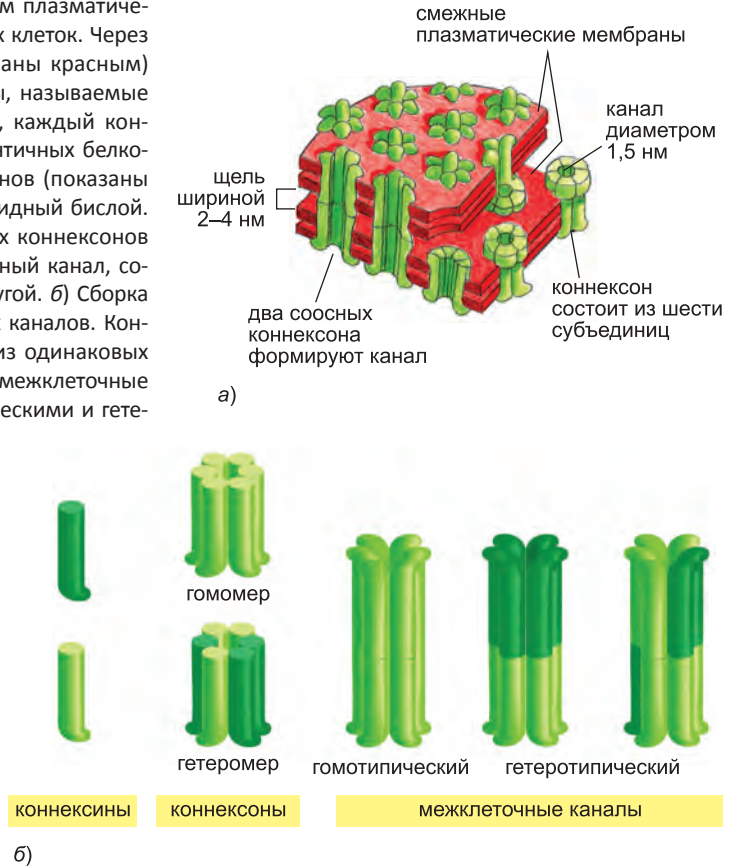
Коннексины — трансмембранные белки с четырьмя трансмембранными доменами. Шесть таких белков, собираясь вместе, формируют *полуканал*, или **коннекцион**. Если коннексины в плазматических мембранах двух граничащих друг с другом клеток оказываются соосными, они образуют непрерывный водный канал, соединяющий внутреннее содержимое этих двух клеток (рис. 19.34, а и рис. 19.35). Щелевой контакт состоит из многих таких параллельных пар коннексионов и представляет собой что-то вроде молекуляторного сита. Коннексины удерживают взаимодействующие плазматические мембраны на фиксированном расстоянии друг от друга — отсюда и название «щелевой контакт».

Щелевые контакты в различных тканях могут иметь разные свойства, поскольку они образованы коннексинами в разнообразных комбинациях, создающих каналы с разной проницаемостью. Большинство клеток вырабатывает несколько типов коннексионов, а два разных коннексина могут образовать гетеромерный коннекцион со своими особыми свойствами. Кроме того, соседние клетки, экспрессирующие различные коннексины, могут формировать межклеточные каналы, в которых два соосных полуканала различаются (рис. 19.34, б).

Каждое скопление коннексионов представляет собой динамическую структуру, которая постоянно собирается, разбирается, перестраивается и может включать в себя от нескольких единиц до многих тысяч коннексионов (см. рис. 19.35, б). Эксперименты на живых клетках с флуоресцентно мечеными коннексинами показывают, что новые коннексионы постоянно возникают на границе существующего скопления, а старые коннексионы удаляются из ее центра и разрушаются (рис. 19.36). Этот оборот осуществляется быстро: время жизни молекулы коннексина составляет несколько часов.

Механизм удаления старых коннексионов из центра скопления неизвестен, однако путь, по которому новые коннексионы достигают ее границы, выяснен: они встраиваются в плазматическую мембрану путем экзоцитоза, подобно другим интегральным мембранным белкам, и затем диффундируют в плоскости мембраны до тех пор, пока не наткнутся на скопление и не присоединятся к нему. Следовательно, плазматическая мембрана вдали от щелевого контакта должна содержать коннексины (полуканалы), не спаренные с полуканалами другой клетки. Считается, что такие неспаренные каналы в норме имеют закрытую конформацию, что предотвращает утечку через них низкомолекулярных соединений. Однако показано,

Рис. 19.34. Щелевые контакты. а) Показаны соединенные таким контактом плазматические мембраны двух соседних клеток. Через оба липидных бислоя (показаны красным) проходят белковые структуры, называемые коннексонами; как полагают, каждый коннексон состоит из шести идентичных белковых субъединиц — коннексинов (показаны зеленым), пересекающих липидный бислой. В результате соединения двух коннексонов образуется непрерывный водный канал, соединяющий одну клетку с другой. б) Сборка коннексонов и межклеточных каналов. Коннексоны могут состоять как из одинаковых мономеров, так и из разных, а межклеточные каналы могут быть гомотипическими и гетеротипическими.



что в некоторых физиологических условиях они могут открываться и действовать как каналы, пропускающие во внеклеточную жидкость небольшие молекулы, например нейромедиатор глутамат, или впускающие низкомолекулярные вещества внутрь клетки.

19.3.3. Щелевые контакты выполняют разнообразные функции

В тканях, содержащих электрически возбудимые клетки, цель сопряжения клеток посредством щелевых контактов очевидна. Например, некоторые нервные клетки электрически сопряжены, что позволяет потенциалам покоя быстро распространяться от клетки к клетке, не задерживаясь на химических синапсах. Это дает преимущество в тех случаях, когда очень важны скорость и надежность передачи сигнала, например, в случае сигнала к бегству у рыб и насекомых, или когда несколько нейронов должны сработать синхронно. Аналогично у позвоночных электрическое сопряжение через щелевые контакты синхронизирует сокращения сердечно-мышечных клеток, а также клеток гладкой мускулатуры, ответственных за перистальтику кишечника.

Щелевые контакты также есть во многих невозбудимых тканях. В принципе, обмен малыми метаболитами и ионами помогает координировать деятельность от-

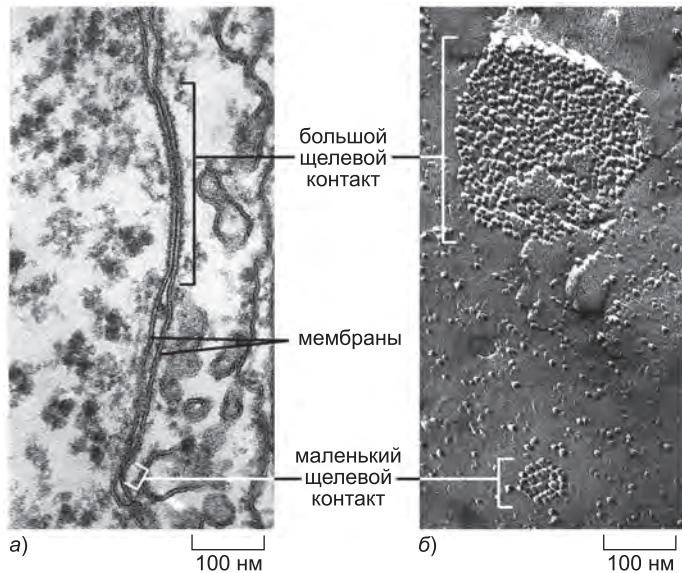
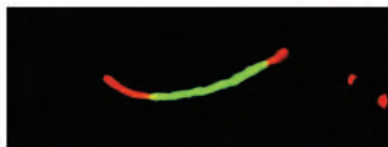


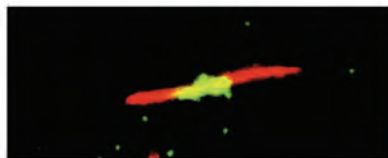
Рис. 19.35. Электронные микрофотографии щелевых контактов между фибробластами в культуре. а) тонкий срез, б) препарат, полученный методом замораживания-скалывания. Можно различить большой и маленький щелевые контакты. На сколе каждый щелевой контакт выглядит как скопление однородных внутримембранных частиц. Каждая мембранная частица соответствует коннексону. (N. B. Gilula. In: Cell Communication [R.P. Cox, ed.], pp. 1–29. New York, Wiley, 1974.)

Рис. 19.36. Обновление коннексина. Клетки содержали ген модифицированного коннексина, имеющего короткую концевую последовательность, или тэг, с четырьмя цистеиновыми остатками: ...Cys-Cys-X-X-Cys-Cys (X означает любой аминокислотный остаток).

ПОПЕРЕЧНЫЕ СРЕЗЫ

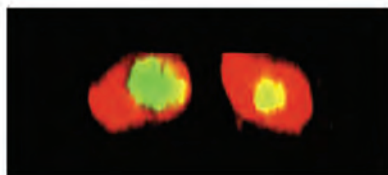


инкубация в течение 4 часов



инкубация в течение 8 часов 1 мкм

СЕЧЕНИЕ В ПЛОСКОСТИ КОНТАКТА



инкубация в течение 8 часов 2 мкм

Тетрацистеиновый тэг способен прочно и необратимо связываться с низкомолекулярными флуоресцентными красителями, которые беспрепятственно проникают в клетку через мембрану из культуральной среды. В экспериментах сначала ввели зеленый краситель, затем клетки отмыли и инкубировали в течение 4 или 8 часов. После этого в среду добавляли красный флуоресцентный краситель, затем отмывали, а препарат фиксировали. Молекулы коннексина, присутствовавшие в клетке к началу эксперимента, поместились зеленым (и совсем не связали красную метку, поскольку их цистеиновые тэги уже занял зеленый краситель), а молекулы коннексина, синтезированные во время инкубации, связались с красным красителем. На рисунках показаны оптические срезы через щелевые контакты между двумя клетками, обработанными таким образом. Центральная часть каждого скопления окрашена в *зеленый* цвет, так как содержит старые молекулы коннексина, а по краям находится красная область, в которой находятся коннексины, синтезированные за последние 4 или 8 часов. Чем больше время инкубации, тем меньше центральная зона старых молекул и тем больше периферическая область, в которой находятся пришедшие им на смену новые молекулы. (Из G. Gaietta et al., *Science* 296: 503–507, 2002. С разрешения издательства AAAS.)

дельных клеток в таких тканях, а также сглаживает случайные флуктуации концентраций низкомолекулярных веществ в различных клетках. Щелевые контакты необходимы, например, в печени, чтобы скоординировать ответ клеток печени на сигналы от нервного окончания, контактирующего лишь с некоторыми клетками (см. рис. 15.7). Нормальное развитие фолликулов в яичнике также невозможно без щелевых коммуникаций между яйцеклеткой и окружающими ее гранулезными клетками. Мутации в гене, кодирующем коннексин, в норме опосредующий контакт между этими клетками, приводят к бесплодию.

Мутации в генах коннексинов, в частности коннексина-26, характерны для всех случаев врожденной глухоты: они приводят к гибели клеток кортиева органа, возможно, из-за того, что они нарушают функционально важные пути тока ионов из клетки в клетку в этом электрически активном сенсорном эпителии. Помимо глухоты, мутации в генах коннексинов ответственны за многие другие нарушения, от катаракты хрусталика вплоть до одной из форм демиелинизирующей болезни периферических нервов.

По-видимому, сопряжение клеток через щелевые контакты также играет роль в эмбриональном развитии. У ранних эмбрионов позвоночных (начиная с восьмиклеточной стадии) большинство клеток электрически сопряжено друг с другом. Когда обособленные группы клеток эмбриона приобретают свои уникальные черты и начинают дифференцироваться, они, как правило, теряют сопряжение с клетками окружающей ткани. Например, когда нервная пластинка сворачивается, замыкаясь, в нервную трубку (см. рис. 19.16), ее клетки теряют сопряжение с лежащей под ней эктодермой. Однако клетки внутри каждой группы остаются сопряженными друг с другом и поэтому ведут себя как согласованный ансамбль, все участники которого следуют единому пути развития.

19.3.4. Клетки могут регулировать проницаемость щелевых контактов

Подобно обычным ионным каналам (см. главу 11), отдельные каналы щелевого контакта не остаются открытыми постоянно; они могут переходить из открытого состояния в закрытое, и наоборот. Более того, проницаемость щелевых контактов можно быстро (за секунды) и обратимо снизить, понизив рН цитоплазмы или увеличив концентрацию свободного Ca^{2+} в цитоплазме до очень больших значений.

Смысл такой зависимости проницаемости от рН неизвестен. Однако в одном случае смысл кальциевой регуляции выяснен. У поврежденной клетки мембрана дает течь. Ионы, концентрация которых в межклеточной жидкости высока, например Na^+ или Ca^{2+} , устремляются в клетку, а ценные метаболиты вытекают наружу. Если бы сопряжение этой клетки с соседями сохранялось, то они бы тоже пострадали от опасных изменений химического состава. Однако большой приток Ca^{2+} в поврежденную клетку приводит к немедленному закрытию каналов щелевого соединения, надежно изолируя эту клетку и предотвращая повреждение других клеток.

Щелевые коммуникации также регулируются с помощью внеклеточных сигналов. Например, нейромедиатор дофамин ослабляет связь некоторых нейронов сетчатки друг с другом, осуществляемую через щелевые соединения, в ответ на повышение интенсивности света (рис. 19.37). Такое снижение проницаемости щелевых контактов помогает сетчатке переключиться с использования палочек, высокочувствительных рецепторов, работающих при малой освещенности, на колбочки, которые воспринимают цвет и мелкие детали изображения на ярком свету.

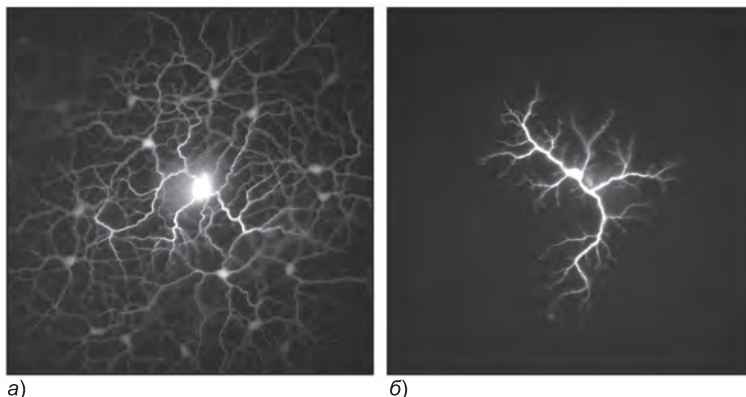


Рис. 19.37. Регуляция проницаемости щелевого соединения с помощью нейротрансмиттера. а) В нейрон сетчатки кролика ввели краситель люцифер желтый, беспрепятственно проникающий через щелевые контакты в другие нейроны того же типа. б) Перед введением красителя сетчатку подвергли воздействию нейротрансмиттера дофамина. Как можно видеть, дофамин значительно снизил проницаемость щелевых контактов. Этот нейротрансмиттер повышает уровень циклического АМР внутри клетки. (С любезного разрешения издательства David Vaney.)

19.3.5. У растений плазмодесмы выполняют многие функции, присущие щелевым контактам у животных

Ткани растений построены по иному принципу, нежели ткани животных. Основным отличием является то, что клетки растений заключены в жесткую клеточную стенку, состоящую из внеклеточного матрикса, богатого целлюлозой и другими полисахаридами (см. ниже). Клеточные стенки соседних клеток прочно скреплены, поэтому растениям не нужны прикрепляющие контакты, чтобы удерживать клетки на своем месте. Однако необходимость прямых межклеточных коммуникаций остается. Таким образом, клетки растений имеют только один класс межклеточных контактов — **плазмодесмы**. Подобно щелевым контактам, они напрямую соединяют цитоплазмы соседних клеток.

У растений толщина клеточной стенки между двумя соседними клетками составляет как минимум 0,1 мкм, и поэтому, чтобы установить сообщение между клетками, находящимися по разные стороны этой стенки, необходима структура, совершенно отличная от щелевого контакта. Эту проблему решают плазмодесмы. За исключением нескольких высокоспециализированных случаев, каждая живая клетка высшего растения соединена с соседней клеткой такой структурой, которая формирует тонкие цитоплазматические каналы, пронизывающие клеточную стенку между ними. Как показано на **рис. 19.38, а**, в области каждой плазмодесмы плазматическая мембрана одной клетки без перерыва переходит в мембрану соседней клетки. Сама плазмодесма представляет собой почти цилиндрический канал диаметром от 20 до 40 нм.

По центру канала в большинстве плазмодесм проходит более узкая цилиндрическая структура — десмотрубочка, соединенная с гладким эндоплазматическим ретикуломом каждой из смежных клеток (**рис. 19.38, б–г**). Низкомолекулярные соединения могут проходить из клетки в клетку по пространству между внешней поверхностью десмотрубочки и внутренней поверхностью цилиндрического канала, сформированного плазматической мембраной. Как только при делении клетки

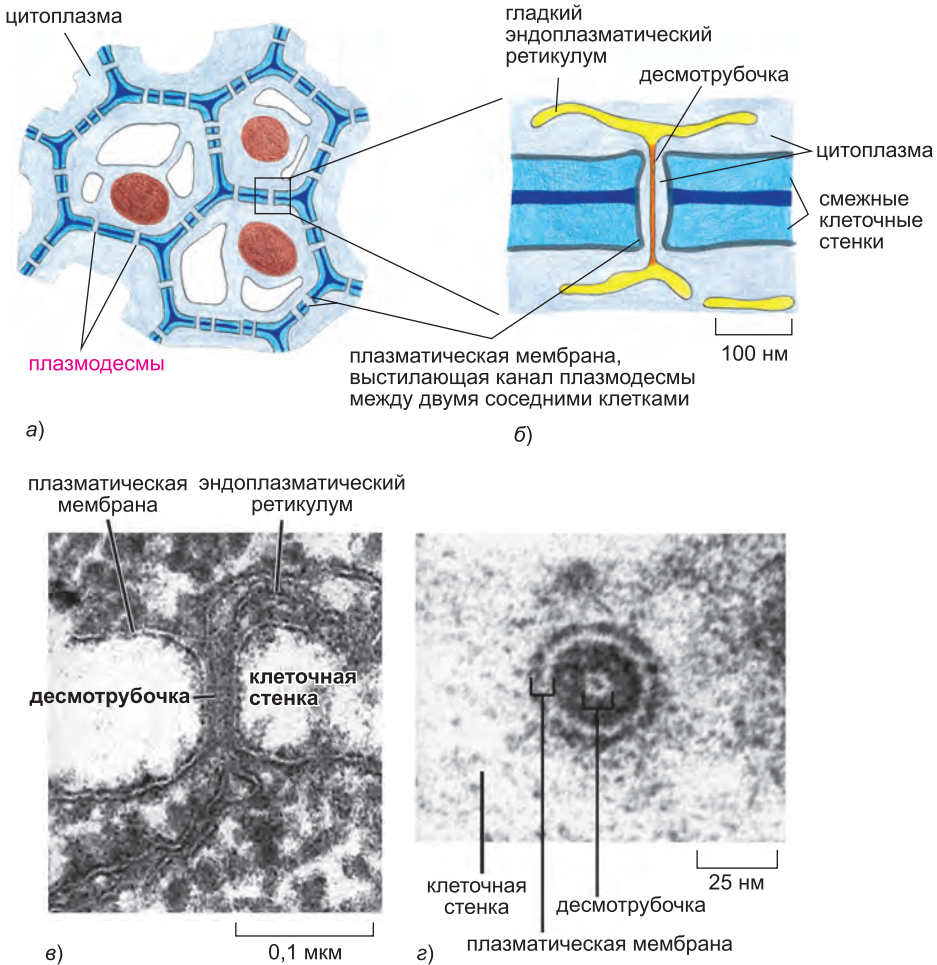


Рис. 19.38. Плазмодесмы. а) Цитоплазматические каналы плазмодесм пронизывают растительную клеточную стенку и соединяют друг с другом все клетки растения. б) Каждая плазмодесма выстлана плазматической мембраной, без перерыва переходящей с одной клетки на другую. Как правило, в канале плазмодесмы находится сложно устроенная структура — десмотрубочка, являющаяся продолжением гладкого эндоплазматического ретикулума. в) Электронная микрофотография продольного среза через плазмодесму папоротника цератоптериса («водяной капусты»). Различима плазматическая мембрана, выстилающая канал, а также эндоплазматический ретикулум и его связь с центральной десмотрубочкой. г) Поперечный срез такой же плазмодесмы. (в и г — из R. Overall, J. Wolf and B. E. S. Gunning, in *Protoplasma* 9, pp. 137 и 140. Heidelberg: Springer-Verlag, 1982.)

на стадии цитокинеза образуется новая клеточная стенка, в ней формируются плазмодесмы. Они формируются вокруг элементов гладкого ЭПР, которые в ходе цитокинеза оказываются погруженными в развивающуюся клеточную пластинку (см. главу 17). Они также могут сформироваться *de novo* в уже существующей клеточной стенке, в которой они, как правило, сидят плотными группами, которые называются *порвыми полями*. В случае, когда необходимость в плазмодесмах отпадает, они могут быть без проблем ликвидированы.

Несмотря на принципиальные различия в структуре между плазмодесмами и щелевыми контактами, они действуют одинаковым образом. Эксперименты по микроинъекции меченых соединений разных размеров свидетельствуют, что плазмодесмы пропускают молекулы с молекулярной массой меньше 800 дальтон, что примерно соответствует ограничениям по размеру для щелевых контактов. Так же как в случае щелевых контактов, перенос веществ через плазмодесмы может регулироваться. Так, эксперименты по введению красителей показали, что, несмотря на наличие внешне нормальных плазмодесм, между некоторыми клетками или группами клеток перенос даже низкомолекулярных веществ затруднен; механизм такого ограничения коммуникации неясен.

В процессе формирования растения группы клеток в меристемах побега и корня могут обмениваться сигналами, определяющими их дальнейшую судьбу (см. главу 22). Некоторые белки-регуляторы экспрессии, участвующие в этом процессе, переходят из клетки в клетку по плазмодесмам. Они связываются с некоторыми компонентами плазмодесм и проходят через них вопреки ограничению по размерам. В некоторых случаях мРНК, кодирующая этот белок, также может проходить через плазмодесмы. Более того, этот путь используют некоторые вирусы растений: инфекционная вирусная мРНК или даже интактные вирусные частицы могут таким способом проникать из клетки в клетку. Эти вирусы вырабатывают белки, которые связываются со структурами, образующими плазмодесмы, в результате чего сильно увеличивается эффективный диаметр отверстия. Задействованные в этом функциональные структуры плазмодесм неизвестны, и на сегодняшний день механизм изменения свойств канала макромолекулами — эндогенными или вирусными — остается загадкой.

Заключение

Клетки многих тканей животных, эпителиальных и неэпителиальных, сопряжены с помощью каналобразующих соединений, называемых щелевыми контактами. Эти контакты имеют вид скоплений коннексонов, которые пропускают молекулы с молекулярной массой, как правило, менее 1000 дальтон, из одной клетки в другую. Клетки могут регулировать проницаемость этих соединений. Щелевые контакты представляют собой динамические структуры: новые коннексоны непрерывно прибывают к периферической области скопления, а старые коннексоны постоянно удаляются из ее центра.

Клетки, соединенные щелевыми контактами, обмениваются многими неорганическими ионами и другими небольшими молекулами и поэтому являются химически и электрически сопряженными. Щелевые контакты играют важную роль в координации деятельности возбудимых и невозбудимых клеток. У растений клетки связаны коммуникационными соединениями, называемыми плазмодесмами. Несмотря на то что их структура не имеет ничего общего со строением щелевого контакта, а макромолекулы могут иногда проходить через плазмодесмы, функции плазмодесм и щелевых контактов совпадают: оба вида контактов пропускают низкомолекулярные соединения и не дают большим молекулам проходить из клетки в клетку.

19.4. Базальная мембрана

Ткани состоят не только из клеток. Часть их объема, и иногда довольно значительную, занимает *межклеточное пространство*, пронизанное замысловатой сетью

макромолекул, составляющих *внеклеточный матрикс*. В состав этого матрикса входят различные белки и полисахариды, объединенные в организованную ячеистую структуру. Эти компоненты вырабатываются клетками, поверхности которых вступают с ними в тесный контакт.

В наших телах матрикс наиболее хорошо выражен в соединительных тканях, таких как костная ткань, сухожилия и дерма, в силу чего эти ткани занимают значительный объем. Однако если взять животных вообще, то с эволюционной точки зрения (хоть это и не столь очевидно) особое положение занимает **внеклеточный матрикс**, формирующий **базальную мембрану**. Эта чрезвычайно тонкая, плотная и гибкая пластинка, образованная молекулами матрикса, представляет собой, по существу, фундамент эпителия. Не занимая много места, она играет принципиальную роль в поддержании формы тела. Наряду с кадгеринами, наличие этой структуры, судя по всему, является одной из определяющих характеристик, присущих всем многоклеточным животным. Другие формы многоклеточного матрикса в гораздо большей степени изменяются от одного типа животного царства к другому, как по составу, так и по распространенности.

В этом разделе мы рассмотрим строение самой базальной мембраны. В следующем разделе мы рассмотрим, как эпителиальные клетки и базальная мембрана взаимодействуют друг с другом и какую роль в этом играют интегрины, сидящие в мембранах эпителиальных клеток. Кроме того, мы увидим, что интегрины также присутствуют и в клетках других типов и там опосредуют их взаимодействие с различными типами внеклеточного матрикса соединительных тканей. Эти формы внеклеточного матрикса мы подробно обсудим ниже.

19.4.1. Базальные мембраны выстилают все виды эпителия, а также окружают некоторые неэпителиальные клетки

Толщина базальной мембраны составляет, как правило, от 40 до 120 нм. Базальная мембрана не только подстилает все эпителии, но также окружает отдельные мышечные клетки, клетки жировой ткани и шванновские клетки (которые формируют миелин, наматываясь на аксон нервной клетки). Таким образом, базальная мембрана отделяет эти клетки и эпителий от лежащей под ними или окружающей их соединительной ткани, а также устанавливает механическую связь между ними. В других местах, например в почечных клубочках, базальная мембрана располагается между двумя пластами клеток и действует как селективный фильтр (**рис. 19.39**). Однако этими двумя простыми функциями — структурной и селективной — роль базальной мембраны не ограничивается. Она может определять полярность клеток, влиять на клеточный метаболизм, упорядочивать белки в прилегающих к ней клеточных мембранах, способствовать выживанию, пролиферации клеток, их дифференцировке и служить «магистралью» при перемещении мигрирующих клеток.

Тем не менее, ее механическая роль очень важна. Например, в коже стабильность внешнего эпителиального слоя, эпидермиса, зависит от прочности базальной мембраны, прикрепляющей его к соединительной ткани — дерме. У людей с генетическими нарушениями, затрагивающими некоторые белки базальной мембраны либо особый тип коллагена, прикрепляющего базальную мембрану к подстилающей ее соединительной ткани, эпидермис отделяется от дермы. Это вызывает **буллезный эпидермолиз**, или **пузырчатку**, характеризующуюся появлением волдырей на коже и вызывающую тяжелое и иногда смертельно опасное состояние.

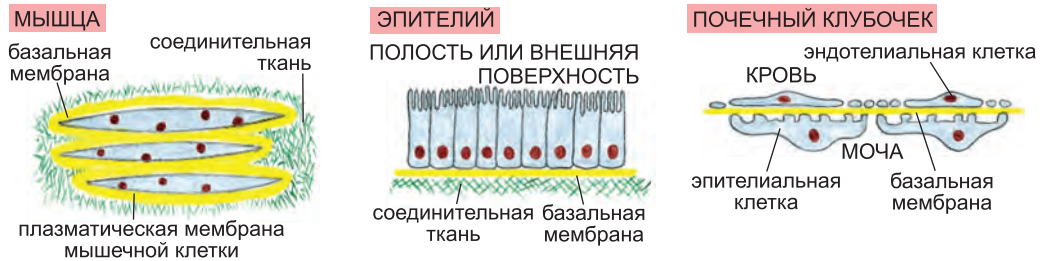
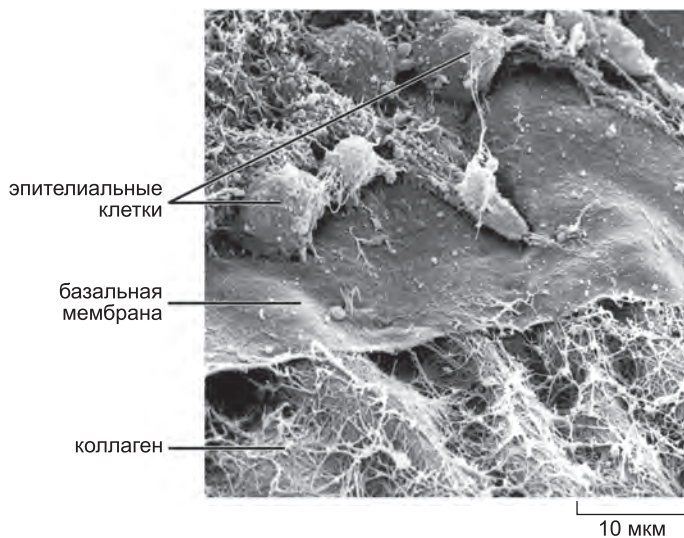


Рис. 19.39. Три способа организации плазматической мембраны. Базальная пластинка (показана желтым) окружает некоторые клетки (например, клетки скелетной мышцы), подстилает эпителий и разделяет два клеточных пласта (как в почечном клубочке). Обратите внимание, что в последнем случае между клетками обоих пластов имеются промежутки. В этих промежутках находятся особые белковые структуры — щелевые диафрагмы; они участвуют в отсеивании молекул, переходящих из крови в мочу. Сама по себе базальная мембрана при этом тоже выполняет как функцию механической поддержки, так и функцию фильтра.

19.4.2. Ламинин — основной компонент базальной мембраны

Базальная мембрана синтезируется клетками, располагающимися по обе стороны от нее: эпителиальные клетки вырабатывают одни компоненты базальной мембраны, а клетки подстилающей соединительной ткани (или *стромы*, что в переводе с греческого означает «перина») — другие (рис. 19.40). Подобно другим видам внеклеточного матрикса, базальная мембрана состоит из внеклеточных макромолекул двух основных классов: (1) фибриллярных белков (как правило, гликопротеинов, связанных с короткими олигосахаридными цепочками) и (2) полисахаридных цепочек — гликозаминогликанов (GAGs), которые обычно ковалентно связаны со специальными белками, которые называют «кóровыми» (от «core proteins»), формируя протеогликаны (рис. 19.41). Чуть позже мы рассмотрим эти два обширных класса молекул матрикса более подробно. Сейчас же они важны нам как компоненты базальной мембраны.



Хотя точный состав зрелой базальной мембраны различен в разных тканях и даже на разных

Рис. 19.40. Базальная мембрана роговицы куриного зародыша. Микрофотография, полученная с помощью сканирующего электронного микроскопа. Часть эпителиальных клеток удалена, чтобы показать верхнюю поверхность базальной мембраны. С нижней поверхностью мембраны взаимодействует густая сеть коллагеновых фибрилл. (С любезного разрешения Robert Trelstad.)

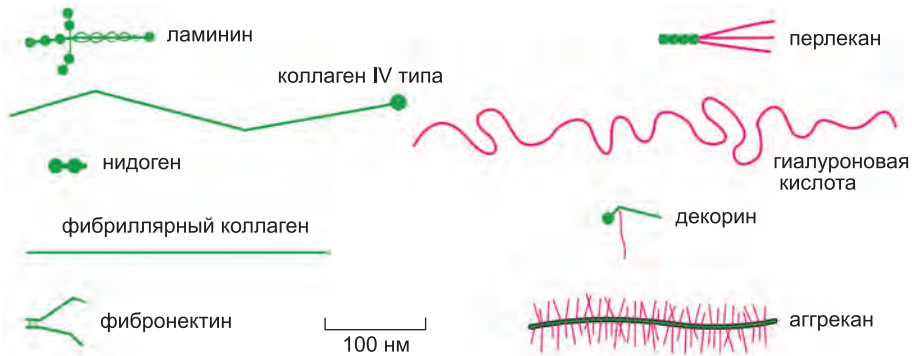


Рис. 19.41. Размеры и формы основных макромолекул внеклеточного матрикса. Белки показаны зеленым, протеогликаны — красным.

участках одной и той же мембраны, она, как правило, содержит гликопротеины *ламинин*, *коллаген IV типа* и *нидоген*, а также протеогликан *перлекан*. Наряду с этими ключевыми компонентами, представленными в базальных мембранах практически всех животных, от медуз до млекопитающих, многие другие молекулы застревают в ячейках базальной мембраны либо оказываются прочно с ней связанными. Среди них коллаген XVIII (необычный представитель коллагенового семейства, формирующий коровый белок одного из протеогликанов) и фибронектин — фибриллярный белок, играющий важную роль в сцеплении клеток соединительной ткани с матриксом.

Считают, что ламинин является первичным организующим компонентом структуры мембраны, и на ранних стадиях развития базальная мембрана состоит в основном из молекул ламинина. **Ламинин-1** (классический ламинин) представляет собой большой, гибкий белок, состоящий из трех очень длинных полипептидных цепей (α , β и γ), скрепленных дисульфидными связями и расположенных так, что вся конструкция напоминает букет из трех цветков, стебли которых у основания обвиты друг вокруг друга, а бутоны смотрят в разные стороны (рис. 19.42). Эти гетеротримеры могут *in vitro* спонтанно образовывать сеть, в основном благодаря взаимодействиям своих головок, однако, для того чтобы сеть приняла правильную форму пласта, необходим контакт с клетками. Поскольку у каждой цепи может быть несколько изоформ и они могут объединяться в различных сочетаниях, то может быть много разных ламининов, и свойства таких базальных мембран будут отличаться. Однако цепь ламинина γ -1 входит в состав большинства гетеротримеров ламинина; мышцы, у которых отсутствует эта цепь, погибают еще в процессе эмбриогенеза, поскольку не могут сформировать базальную мембрану.

19.4.3. Коллаген IV типа придает базальной мембране прочность на разрыв

Коллаген IV типа, второй важный компонент зрелой базальной мембраны, также существует в нескольких изоформах. Так же как и *фибриллярные коллагены*, представляющие белковую составляющую соединительной ткани, например костей и сухожилий (см. далее), молекулы коллагена IV типа состоят из трех отдельно синтезируемых длинных белковых цепей, закрученных в суперспираль подобно канату. Однако отличие их состоит в том, что их тройная спиральная структура

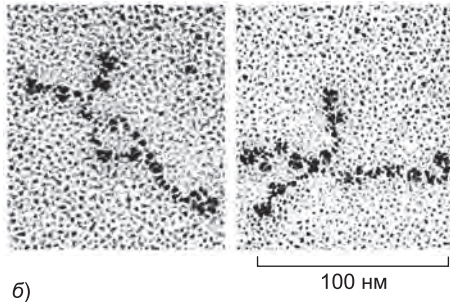
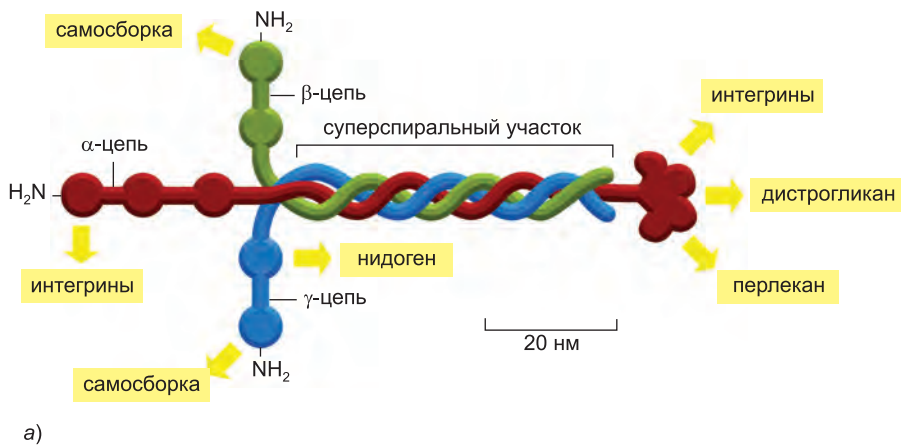


Рис. 19.42. Структура ламинина. На рисунке (а) представлены субъединицы молекулы ламинина-1; некоторые из сайтов связывания с другими молекулами отмечены желтыми стрелками. Ламинин представляет собой мультидоменный гликопротеин, состоящий из трех полипептидов (α , β и γ), связанных дисульфидными мостиками наподобие несимметричного креста. Длина каждой полипептидной цепочки составляет более 1500 аминокислотных остатков. Известно пять типов α -цепей, три типа β -цепей и три типа γ -цепей. Теоретически из них можно составить 45 различных изоформ ламинина. На сегодняшний момент достоверно

обнаружено несколько из них, и в различных тканях они представлены по-разному. Благодаря своей способности связываться с другими молекулами, ламинин во многом определяет устройство базальных мембран и способствует их прикреплению к клеткам. б) Электронные микрофотографии молекул ламинина, полученные методом напыления платиной. (б — из J. Engel et al., *J. Mol. Biol.* 150: 97–120, 1981. С разрешения издательства Academic Press.)

на более чем двадцати участках прерывается, обеспечивая гибкость. Молекулы коллагена IV типа взаимодействуют своими концевыми доменами, образуя в межклеточном пространстве гибкую войлокообразную сеть. Таким образом, коллаген IV типа придает прочность на разрыв.

Но как сети, образованные ламинином и коллагеном IV типа, связаны друг с другом и с поверхностью клеток, примыкающих к базальной мембране? Почему они формируют двумерный пласт, а не трехмерный гель? Молекулы ламинина имеют несколько функциональных доменов, включая домен, связывающий протеогликан перлекан, который, в свою очередь, связывается с белком нидогеном, а также два или более домена, связывающихся с белками рецептора ламинина на поверхности клеток. Коллаген IV типа также имеет домены, связывающиеся с нидогеном и перлеканом. Поэтому считается, что нидоген и перлекан служат линкерами, соединяющими сети, образованные ламинином и коллагеном IV типа, когда ламинин занимает свое место (рис. 19.43).

Молекулы ламинина, образующие начальную плоскую структуру, сначала соединяются друг с другом, будучи связанными с рецепторами на поверхности кле-

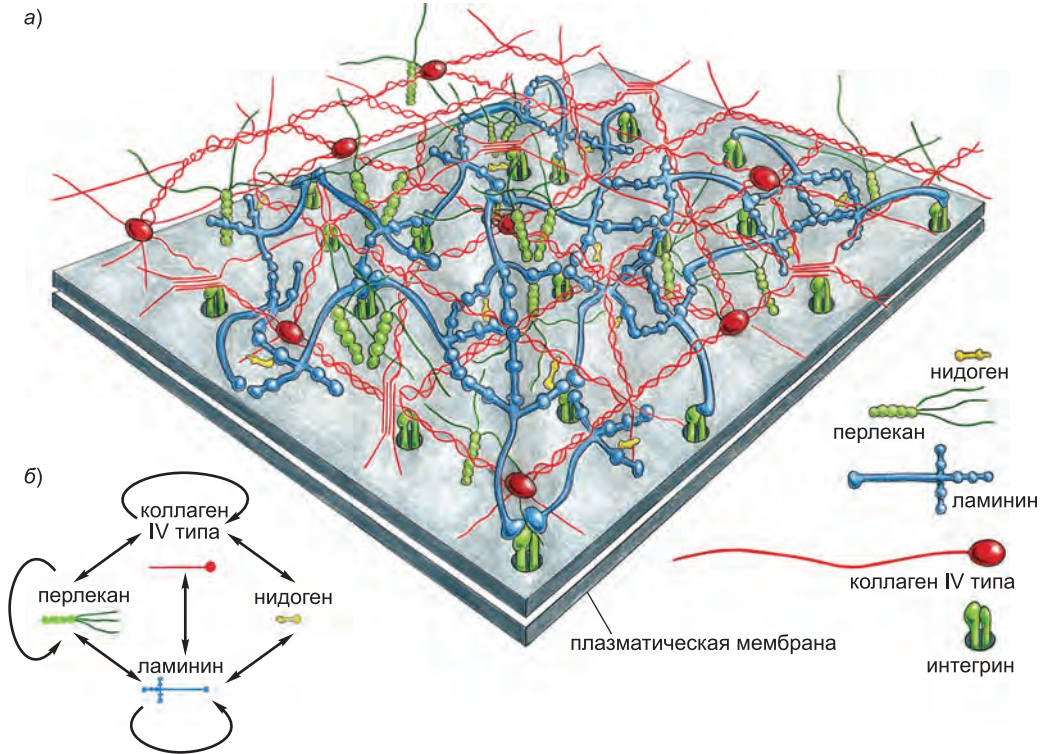


Рис. 19.43. Современная модель молекулярной структуры базальной мембраны. В сборке базальной мембраны (а) большую роль играют специфические взаимодействия между молекулами белков (б): в них участвуют ламинин, коллаген IV типа, нидоген, а также протеогликан перлекан. На рисунке (б) стрелки соединяют молекулы, способные связываться друг с другом напрямую. Коллаген IV типа и ламинин существуют в различных изоформах, неодинаково распределенных по тканям организма. Считается, что трансмембранные рецепторы ламинина (интегрин и дистрогликан) участвуют в сборке базальной мембраны; на рисунке показаны только интегрины. (По Н. Cognato and P. D. Yurchenco, *Dev. Dyn.* 218: 213–234, 2000. С разрешения издательства Wiley-Liss.)

ток, которые их вырабатывают. Эти рецепторы бывают нескольких видов. Многие из них являются представителями семейства интегринов; другим важным типом ламининовых рецепторов является *дистрогликан* — протеогликан, чей бóровый белок пронизывает мембрану, а гликозаминогликановые полисахаридные цепи находятся во внеклеточном пространстве. Все эти рецепторы создают структуру базальной мембраны: они фиксируют основания молекул ламинина, в то время как головки ламининов могут взаимодействовать, формируя двумерную сеть. Эта ламининовая сеть, по-видимому, координирует связывание остальных компонентов базальной мембраны.

19.4.4. Базальные мембраны выполняют разнообразные функции

Как мы упоминали, в почечных клубочках необычно толстая базальная мембрана служит одним из слоев молекулярного фильтра, помогая предотвратить проникновение макромолекул из крови в мочу (см. рис. 19.39). По-видимому,

протеогликаны базальной мембраны играют в этом большую роль: если с помощью специального фермента удалить их гликозаминогликановые цепочки, селективные свойства мембраны будут нарушены. В этом также участвует коллаген IV типа: в случае наследственного заболевания почек у человека (*синдром Альпорта*), мутации в генах коллагена IV типа приводят к неравномерному утолщению и дисфункции гломерулярного фильтра. Мутации, затрагивающие ламинин, также нарушают функцию почечного фильтра, но по-другому: они препятствуют нормальной дифференцировке примыкающих к фильтру клеток.

Базальная мембрана может, кроме того, служить селективным барьером для перемещающихся клеток. Например, мембрана, подстилающая эпителий, как правило, не дает фибробластам соединительной ткани устанавливать контакт с эпителиальными клетками. Однако она не препятствует прохождению через нее макрофагов, лимфоцитов и нервных отростков; при этом используются специальные протеазы, вырезающие проходные отверстия. Базальная мембрана также участвует в процессах регенерации ткани после повреждения. Если клетки ткани, будь то мышечные, нервные или эпителиальные клетки, повреждаются либо уничтожаются, то базальная мембрана часто продолжает функционировать и служит остовом, по которому могут мигрировать клетки, участвующие в регенерации. Таким способом архитектура ткани быстро восстанавливается.

Представляет особый интерес роль базальной мембраны в регенерации *нервно-мышечного соединения*, то есть синапса, соединяющего нервное окончание моторного нейрона со скелетно-мышечной клеткой (см. главу 11). У позвоночных базальная мембрана, окружающая мышечные клетки, разделяет плазматические мембраны мышечной и нервной клеток в синапсе; базальная мембрана в области синапса имеет другой химический состав, включающий особые изоформы коллагена IV типа и ламинина, а также протеогликан *агрин*.

Базальная мембрана играет центральную роль при восстановлении синапса после повреждения нерва или мышцы. Если мышца лягушки и иннервирующий ее двигательный нерв повреждаются, то базальные мембраны вокруг каждой мышечной клетки остаются нетронутыми, и участки прежних нервно-мышечных соединений можно распознать. Если позволить двигательному нерву (но не мышце) регенерировать, то аксоны нервных клеток начинают искать места прежних синапсов на базальной мембране, и дифференцируются в этих участках, приобретая вид нормальных нервных окончаний. Таким образом, сама базальная мембрана может направлять процесс регенерации окончаний двигательного нерва.

Подобные эксперименты показывают, что базальная мембрана также влияет на локализацию ацетилхолиновых рецепторов, которые сосредотачиваются в плазматической мембране мышечной клетки в области нервно-мышечного соединения. Если повреждены и мышца, и нерв, а регенерировать может только мышца, то ацетилхолиновые рецепторы, синтезируемые регенерировавшей мышечной клеткой, локализуются преимущественно в области прежних контактов, даже если поблизости нет нерва (**рис. 19.44**). Таким образом, соединительная базальная мембрана, несомненно, координирует пространственное расположение компонентов двух клеток, формирующих нервно-мышечное соединение. Некоторые молекулы, участвующие в этом, идентифицированы. Например, аксоны моторных нейронов накапливают агрин в соединительной базальной мембране, где он регулирует аккумуляцию ацетилхолиновых рецепторов и других белков в плазматической мембране мышечной клетки в области соединения. Мышечные клетки, наоборот,

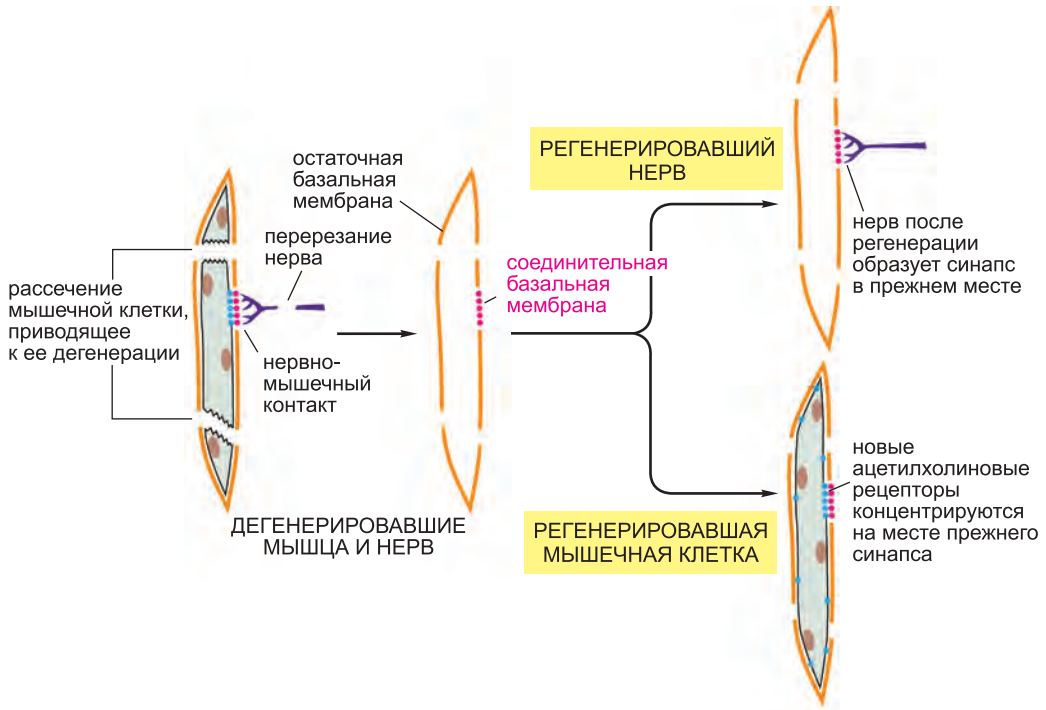


Рис. 19.44. Эксперименты по регенерации, демонстрирующие особенности устройства соединительной базальной мембраны в области нервно-мышечного контакта. При регенерации нерва (но не мышцы) после его повреждения (*вверху*) соединяющая базальная мембрана направляет восстанавливающееся нервное окончание к прежней точке синапса. Если же, наоборот, регенерирует мышца, а не нерв (*внизу*), то базальная мембрана заставляет новые ацетилхолиновые рецепторы скапливаться в прежней точке контакта. Мышца регенерирует из сателлитных клеток (см. главу 23), находящихся между базальной мембраной и поврежденной мышечной клеткой (не показаны). Эти эксперименты демонстрируют, что соединяющая базальная мембрана контролирует локализацию компонентов синапса по обе ее стороны.

накапливают в соединительной базальной мембране особые изоформы ламинина. Некоторые данные свидетельствуют о том, что эти молекулы ламинина напрямую связываются с внеклеточными доменами потенциалозависимых кальциевых каналов в пресинаптической мембране нервной клетки, не давая им уйти из области синапса. Как агрин, так и синаптические изоформы ламинина играют важную роль при формировании нормального нервно-мышечного соединения. Нарушения, затрагивающие компоненты базальных мембран либо белки, обеспечивающие прикрепление к ней мышечных клеток в области синапса, лежат в основе многих форм мышечной дистрофии, при которых мышцы сначала развиваются нормально, но в течение жизни дегенерируют.

Заключение

Базальная мембрана представляет собой тонкий прочный слой внеклеточного матрикса, который тесно прилегает к эпителию у всех многоклеточных животных. Он также окружает некоторые клетки других типов, например мышечные. Все базальные мембраны образованы сетью молекул ламинина,

соединенных своими отростками, и удерживаются в непосредственной близости от базальных поверхностей эпителиальных клеток с помощью интегринов и других рецепторов в базальной части плазматической мембраны. Молекулы коллагена IV типа также участвуют в образовании этой структуры, объединяясь в плоскую ячеистую сеть, являющуюся важнейшим компонентом всех зрелых базальных мембран. Коллагеновые и ламининовые сети в сформировавшейся базальной мембране связаны посредством белка нидогена и большого гепарансульфат-содержащего протеогликана перлекана.

Базальные мембраны служат эпителию механической опорой; они формируют границу между эпителием и соединительной тканью и способствуют их сцеплению друг с другом; они выступают в роли фильтров в почках; они действуют как барьеры, удерживающие клетки на своем месте; они влияют на полярность клеток и их дифференцировку; они направляют миграцию клеток; молекулы, входящие в их состав, участвуют в образовании таких сложных структур, как нервно-мышечные синапсы. При повреждении или уничтожении клеток базальная мембрана часто остается интактной и участвует в процессах регенерации.

19.5. Интегрины и прикрепление клеток к матриксу

Клетки создают внеклеточный матрикс, упорядочивают его и разрушают. Матрикс же, в свою очередь, оказывает огромное влияние на клетки. Это влияние передается в основном через трансмембранные белки клеточной адгезии, действующие как *рецепторы матрикса*. Эти рецепторы связывают матрикс, находящийся вне клетки, с внутренним цитоскелетом клетки, однако их роль не сводится к простому механическому прикреплению. Через них компоненты матрикса могут влиять практически на любой аспект поведения клетки. Рецепторы матрикса имеют принципиальное значение в эпителиальных клетках, участвуя во взаимодействиях с базальной мембраной; не меньшую роль они играют во взаимодействии клеток соединительной ткани с окружающим их матриксом.

В качестве рецепторов или корецепторов могут выступать несколько типов молекул, включая трансмембранные протеогликианы. Однако основными рецепторами, связывающими в клетках животных большую часть белков матрикса, являются **интегрины**. Подобно кадгеринам и ключевым компонентам базальной мембраны, интегрины входят в универсальный набор характеристик, свойственных всем многоклеточным животным. Представители этого обширного семейства гомологичных трансмембранных молекул адгезии могут передавать сигнал через мембрану в обоих направлениях. Связывание компонента матрикса с интегрином может восприниматься как сообщение извне, а в других обстоятельствах внутри клетки может поступить сигнал, контролирующий связывание интегрина с матриксом (или, в некоторых случаях, с молекулой на поверхности другой клетки, как мы видели в случае связывания лейкоцитов с эндотелиоцитами). Напряжение на интегринах позволяет им прочнее захватывать внутриклеточные и внеклеточные структуры, а уменьшение напряжения ослабляет связь, из-за чего сигнальные комплексы по обе стороны мембраны распадаются. Таким образом, интегрины могут не только служить передатчиками механических и молекулярных сигналов, но также превращать один сигнал в другой. Благодаря исследованиям структуры интегринов мы начинаем понимать механизм их функционирования.

19.5.1. Интегрины — трансмембранные гетеродимеры, связанные с цитоскелетом

На сегодняшний день известно много разновидностей интегринов (у человека их 24), однако все они имеют единый план строения. Молекула интегрина состоит из нековалентно связанных гликопротеиновых субъединиц, обозначаемых α и β . Обе субъединицы являются трансмембранными и имеют короткий внутриклеточный С-концевой домен и длинный внеклеточный N-концевой домен. Внеклеточная часть интегринового димера связывается со специфическими аминокислотными последовательностями белков матрикса, например ламинина или фибронектина, либо, в некоторых случаях, с молекулами на поверхности других клеток. Внутриклеточные домены связаны с цитоскелетом с помощью нескольких белков, образующих комплекс.

Все 24 формы интегринов человека, кроме одной, соединены с актиновыми филаментами с помощью *талиина* и нескольких других внутриклеточных якорных белков (рис. 19.45). По-видимому, ключевым компонентом прикрепительного комплекса является *талиин*. Подобно связанным с актином межклеточным контактам, которые образуют кадгеринины, связанные с актином контакты клеток с матриксом, формируемые интегринами, могут быть небольшими, слабыми и временными, а могут, напротив, быть обширными, хорошо выраженными и прочными. Примерами последних могут служить *фокальные контакты*, которые формируются в том случае, когда у фибробластов есть достаточно много времени, чтобы прочно прикрепиться к твердой поверхности чашки Петри; кроме того, сюда относятся соединения между клетками мышцы и ее сухожилием.

В эпителии большая часть выраженных контактов клетки с матриксом представляет собой полудесмосому, в составе которой особый тип интегрина ($\alpha\beta4$) связывает клетки с ламинином базальной мембраны. В этом уникальном случае интегрин внутриклеточно связан с кератиновыми филаментами через якорные белки плектин и дистонин (рис. 19.46).

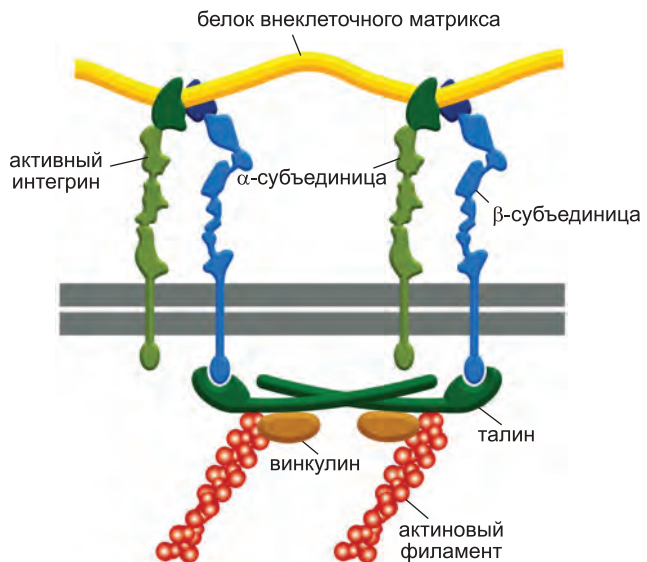


Рис. 19.45. Структура активной молекулы интегрина, связывающей внеклеточный матрикс с актиновым цитоскелетом. «Голова» молекулы интегрина связывается непосредственно с внеклеточным белком (например, фибронектином), а внутриклеточный домен — с талином, связанным, в свою очередь, с актином микрофиламентов. Связь усиливается дополнительными белками, в том числе α -актинином, филамином и винкулином.

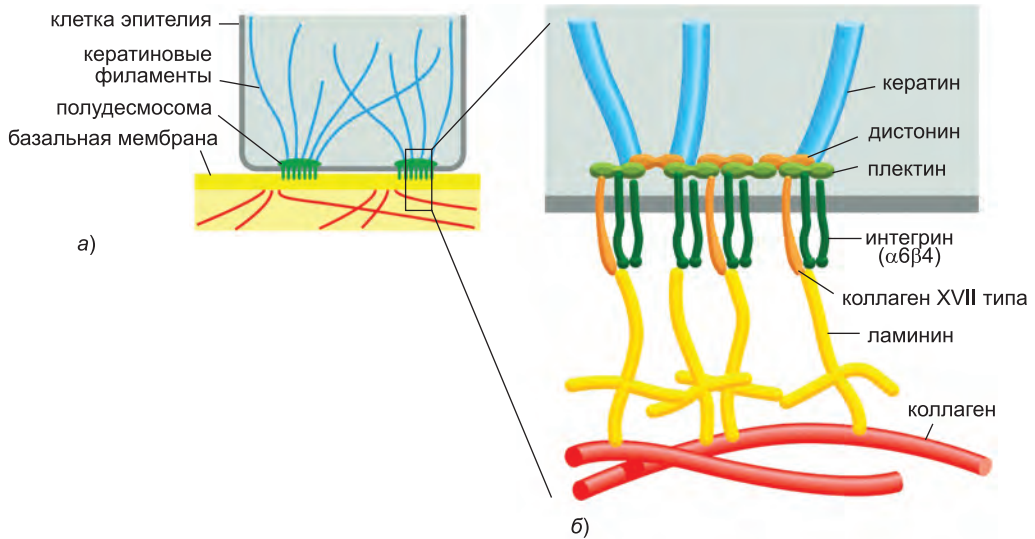


Рис. 19.46. Полудесмосомы. а) «Точечная спайка» эпителиальных клеток с базальной мембраной через полудесмосомы. Внеклеточный ламинин соединяется с кератиновыми филаментами клетки. б) Молекулярные составляющие полудесмосомы. Интегрин особого типа ($\alpha 6 \beta 4$), пронизывающий мембрану, связан с кератиновыми филаментами клетки (через якорные белки плектин и дистонин) и с ламинином внеклеточного матрикса. Кроме того, в состав этого комплекса входит необычный коллаген XVII типа. Последний состоит из трансмембранного домена и внеклеточной части, обладающей характерными свойствами коллагена. Дефекты, затрагивающие любой из этих компонентов, приводят к образованию волдырей на коже.

19.5.2. Интегрины могут переходить из активного в неактивное состояние, и наоборот

Клетка, протискивающаяся сквозь ткань, например фибробласт или макрофаг, либо эпителиальная клетка, мигрирующая вдоль базальной мембраны, должна уметь устанавливать и разрывать контакты с матриксом, причем делать это быстро, чтобы перемещаться с достаточной скоростью. Аналогично, циркулирующие с током крови лейкоциты должны управлять своими контактами с эндотелиальными клетками, чтобы в определенных обстоятельствах суметь протиснуться между клетками и выйти из кровеносного сосуда в точке воспаления. Более того, если необходимо оказать механическое воздействие, то создание и разрыв внеклеточных контактов во всех этих случаях должны быть сопряжены с быстрой сборкой и разборкой комплексов, соединяющих эти контакты с цитоскелетом. Трансмембранные молекулы интегрина, участвующие в установлении контактов, не могут быть просто пассивными жесткими объектами с двумя липкими концами. Они должны уметь переходить из активного состояния, в котором они беспрепятственно устанавливают контакт, в неактивное, в котором они не имеют такой возможности, и наоборот. Кроме того, связывание лигандов на одной стороне мембраны должно изменять их способность связываться с другими молекулами на противоположной стороне мембраны.

Подобная динамика основана на аллостерической регуляции: при связывании интегрин со своим лигандом либо при разрыве связи белок претерпевает конформа-

Рис. 19.47. Щипцы для переноски бревен. Чтобы схватить бревно, нужно сжать ручки; и наоборот, если сомкнуть рабочие концы, ручки также сомкнутся. Далее, чем сильнее давить, тем сильнее будет сжатие на обоих концах. Молекула интегрина устроена аналогично: конформационные изменения на одном конце приводят к изменениям на противоположном конце, причем при большем сжатии захват усиливается.



ционные изменения, затрагивающие и внутриклеточную, и внеклеточную части молекулы. Структурные изменения на одном конце молекулы сопряжены со структурными перестройками на другом, так что сигнал может быть передан в любом направлении. Некоторое представление о механизме работы интегринов может дать аналогия с клещевым захватом, используемым для переноски бревен (рис. 19.47).

Структурные перестройки в интегрине можно показать, взяв очищенный препарат интегрин и исследовав эти молекулы с помощью электронного микроскопа при большом разрешении. Если интегрин поместить в среду с большой концентрацией кальция, что соответствует нормальному химическому составу внеклеточной жидкости, но без внеклеточных лигандов, а затем быстро приготовить препарат для микроскопии, то его молекулы выглядят как сильно скрученные V-образные объекты. Однако если добавить в среду небольшой синтетический пептид, содержащий последовательность, имитирующую интегрин-связывающий домен белка матрикса, то интегрин связывает этот пептид и приобретает другую форму, у которой есть две «ноги», которые оказываются не переплетенными, а напротив, вытянутыми и отделенными друг от друга, прикасаясь лишь в области «головы» (рис. 19.48, а). Эти две структуры можно сравнить с более детальными данными рентгеновской кристаллографии, и обнаружить, что двум «ногам» соответствуют α - и β -цепи интегрин. Область «головы», где они сходятся, содержит сайт связывания внеклеточного лиганда. Связывание лиганда изменяет структуру этого участка, что вызывает переход в вытянутую, «активную» конформацию; и наоборот, переход в вытянутую конформацию облегчает связывание лиганда, повышая сродство к нему сайта связывания (рис. 19.48, б).

Но как эти изменения внеклеточной части интегрин соотносятся с событиями на ее внутриклеточном конце? В свернутом, неактивном состоянии молекулы интегрин внутриклеточные части ее α - и β -цепей находятся близко и связаны друг с другом. Когда конформация внеклеточного домена меняется, этот контакт теряется и внутриклеточные (а также трансмембранные) части этих цепей расходятся. В результате этого открывается сайт связывания талина, находящийся на конце β -цепи. Связывание талина приводит к сборке актиновых филаментов, связанных с внутриклеточным доменом молекулы интегрин (см. рис. 19.45). Таким образом, когда интегрин захватывает внешний лиганд, клетка реагирует, связывая свой цитоскелет с молекулой интегрин, так что к точке прикрепления можно прилагать силу. Это известно как «активация извне».

Эта причинно-следственная связь может работать и в другом направлении — изнутри наружу. Талин конкурирует с α -цепью за сайт связывания на конце β -цепи. Когда талин связывается с β -цепью, связь между двумя внутриклеточными фрагмен-

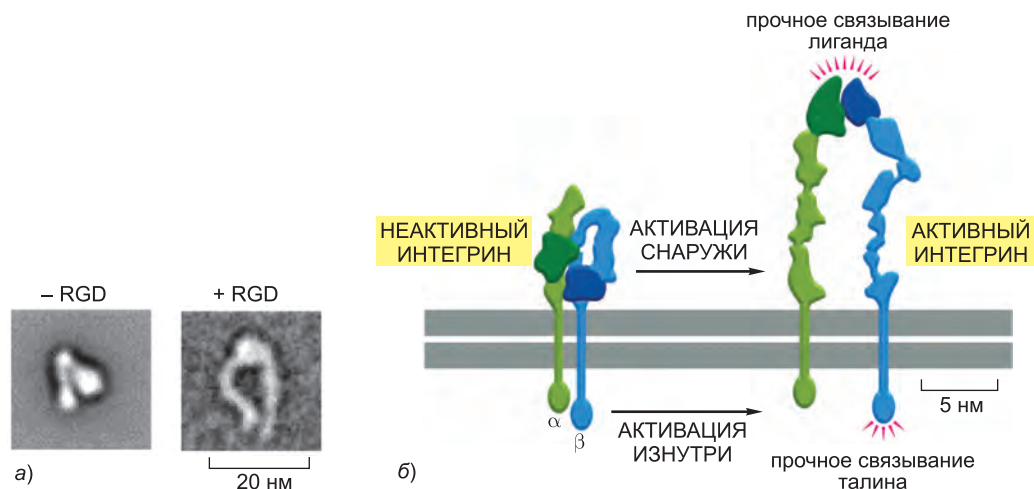


Рис. 19.48. Изменение конформации молекулы интегрина при связывании лиганда. *а)* Изображения отдельных молекул интегрина, полученные при усреднении многих наложенных друг на друга электронных микрофотографий. В отсутствие внеклеточного лиганда молекула интегрина выглядит компактной и свернутой. При инкубации с RGD-пептидом интегрин принимает вытянутую конформацию с двумя различимыми «ножками». *б)* Активная (вытянутая) и неактивная (компактная) формы молекулы интегрина по данным рентгеноструктурного анализа. Несмотря на сложность кристаллизации интактной молекулы в естественных конформациях, с лигандом и без него, полная структура может быть достаточно точно установлена путем совмещения трехмерных структур молекулярных фрагментов. (*а* — из J. Takagi et al., *Cell*, 110: 599–611, 2002. С разрешения издательства Elsevier; *б* — по T. Xiao et al., *Nature* 432: 59–67, 2004. С разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

тами цепей разрывается, позволяя им разойтись. В результате этого внеклеточная часть интегрина переходит в вытянутую, активную конформацию.

Подобная «активация изнутри» запускается внутриклеточными регуляторными молекулами. Среди них — фосфоинозитид PIP_2 (см. главу 15), который, как считается, способен активировать талин, в результате чего тот прочно связывается с интегриновой β -цепью. Таким образом, сигнал изнутри клетки может заставить молекулу интегрина вытянуться и захватить свой внеклеточный лиганд.

Внутриклеточные сигнальные молекулы, такие как PIP_2 , в свою очередь, вырабатываются в ответ на сигналы, полученные извне через рецепторы другого типа, например рецепторы, связанные с G-белками и тирозинкиназные рецепторы. Таким образом, эти сигналы могут управлять активацией интегрина (рис. 19.49). И наоборот, активация интегрина при прикреплении к матриксу может влиять на рецепцию других сигналов. Перекрестная связь между всеми этими путями сообщения, передающими сигналы через мембрану в обоих направлениях, является основой сложных взаимодействий между клеткой и ее физическим и химическим окружением.

19.5.3. Нарушения, связанные с интегринами, лежат в основе многих генетических заболеваний

24 типа интегрина, обнаруженных у человека, образованы продуктами 8 различных генов β -цепей и 18 различных генов α -цепей, димеризованных в различных комбинациях. Каждый интегрин имеет свои уникальные свойства и функции. Более

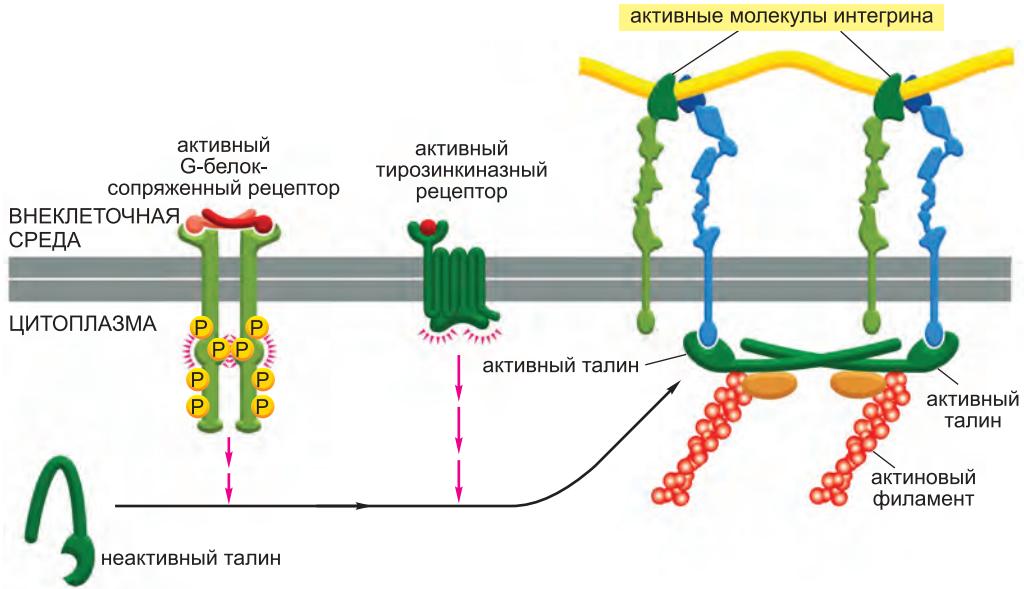


Рис. 19.49. Активация интегрина при взаимодействии с другими сигнальными путями. Внешние сигналы, поступающие к клетке через другие рецепторы на ее поверхности, например, рецепторы, связанные с G-белками, или тирозинкиназные рецепторы, могут изменять конформацию талина, тем самым активируя интегрины клетки.

того, поскольку одна и та же молекула интегрина в клетках разных типов может по-разному вести себя при связывании лиганда, возможно, что с интегринными в зависимости от типа клетки могут взаимодействовать и изменять их свойства различные дополнительные факторы. На связывание интегринных со своими лигандами также влияют концентрации Ca^{2+} и Mg^{2+} во внеклеточной среде, что отражает наличие доменов связывания двухвалентных катионов на α - и β -субъединицах. Двухвалентные катионы могут влиять как на сродство, так и на специфичность связывания интегринных с его лигандами.

Многообразие функций интегринных поразительно, хотя бывает, что несколько интегринных выполняют одну и ту же функцию (например, как минимум пять интегринных связывают ламинин). В [таблице 19.4](#) перечислены некоторые разновидности интегринных и нарушения, к которым приводят дефекты в отдельных α - и β -цепях.

Субъединицы $\beta 1$ образуют димеры по крайней мере с 12 различными α -субъединицами и обнаружены почти во всех клетках позвоночных: $\alpha 5\beta 1$ представляет собой рецептор фибронектина, а $\alpha 6\beta 1$ — рецептор ламинина во многих клетках. Мутантные мыши, неспособные к выработке каких-либо $\beta 1$ -содержащих интегринных, погибают на стадии имплантации (одна из самых ранних стадий развития зародыша). Мыши, не способные вырабатывать только $\alpha 7$ -субъединицу (которая в мышечной клетке связывается с $\beta 1$), выживают, но страдают от мышечной дистрофии (так же как мыши, неспособные к выработке ламининового лиганда для интегринных $\alpha 7\beta 1$).

Субъединицы $\beta 2$ формируют димеры с α -субъединицами по крайней мере четырех типов и экспрессируются исключительно на поверхности лейкоцитов, где

Таблица 19.4. Некоторые типы интегринов

| ИНТЕГРИН | ЛИГАНД* | РАСПРЕДЕЛЕНИЕ | ФЕНОТИП МУТАНТОВ ПО α -СУБЪЕДИНИЦЕ | ФЕНОТИП МУТАНТОВ ПО β -СУБЪЕДИНИЦЕ |
|--------------------------|--|--------------------------|--|---|
| $\alpha 5\beta 1$ | фибронектин | езде | смерть на стадии эмбриона; нарушения кровеносных сосудов, сомитов, нервного гребня | смерть на ранней стадии (при имплантации) |
| $\alpha 6\beta 1$ | ламинин | езде | обильные волдыри на коже; также нарушения в других эпителиях | смерть на ранней стадии (при имплантации) |
| $\alpha 7\beta 1$ | ламинин | мышцы | мышечная дистрофия; нарушения мышечно-соединительных соединений | смерть на ранней стадии (при имплантации) |
| $\alpha L\beta 2$ (LFA1) | контррецепторы из суперсемейства иммуноглобулинов (ICAM) | лейкоциты | нарушение работы лейкоцитов | дефицит лейкоцитарной адгезии; неэффективная воспалительная реакция; рецидивы инфекций |
| $\alpha IIb\beta 3$ | фибриноген | тромбоциты | кровотечение; агрегация тромбоцитов невозможна (болезнь Гланцманна) | кровотечение; агрегация тромбоцитов невозможна (болезнь Гланцманна); остеопетроз (окаменелость костей) в легкой форме |
| $\alpha 6\beta 4$ | ламинин | полудесмосомы в эпителии | обильные волдыри на коже; также нарушения в других эпителиях | обильные волдыри на коже; также нарушения в других эпителиях |

*Перечислены не все лиганды.

они необходимы для успешной борьбы с инфекцией. $\beta 2$ -интегрины по большей части опосредуют межклеточные контакты, а не прикрепление клеток к матриксу, связываясь со специфическими лигандами на поверхности другой клетки, например эндотелиальной. Эти лиганды, которые иногда называют *контррецепторами*, являются представителями суперсемейства иммуноглобулинов. В этой главе мы уже рассматривали подобный пример: интегрин этого класса ($\alpha L\beta 2$, известный также как LFA1) на лейкоцитах позволяет им прочно соединиться с белком иммуноглобулинового суперсемейства ICAM на эндотелиальных клетках там, куда проник возбудитель заболевания, и покинуть кровяное русло, внедрившись в инфицированную ткань (см. рис. 19.19, б). Люди с генетическим наследственным *дефицитом лейкоцитарной адгезии* не вырабатывают полнофункциональных $\beta 2$ -субъединиц. В результате этого их лейкоциты лишены целого семейства $\beta 2$ -рецепторов, и такие люди подвержены частым бактериальным инфекциям.

$\beta 3$ -интегрины обнаружены на тромбоцитах (а также и на других клетках), они связывают несколько белков матрикса, включая фактор связывания крови фибриноген — белок, взаимодействующий с тромбоцитами в процессе свертывания крови: при *болезни Гланцмана* — наследственном дефиците $\beta 3$ -интегринов — у больных плохо свертывается кровь и они страдают от кровопотери.

В случае лейкоцитов и тромбоцитов способность регулировать активность интегрин «изнутри» особенно важна. Регуляция связывания позволяет клеткам беспрепятственно перемещаться до тех пор, пока они не будут активированы соответ-

ствующим стимулом. Поскольку интегрины не нужно синтезировать *de novo*, ответ может быть достаточно быстрым. Например, рецепторы тромбоцитов активируются в ответ на столкновение со стенкой поврежденного кровеносного сосуда, а также многие растворимые сигнальные молекулы, запускающие активацию $\beta 3$ -интегрина в мембране тромбоцита. Взаимодействие тромбоцитов с фибриногеном приводит к формированию тромба, помогающего остановить кровотечение именно там, где это необходимо. Аналогично, связывание Т-лимфоцита со своим специфическим антигеном на поверхности антигенпрезентирующей клетки (см. главу 25), запускает в нем внутриклеточные сигнальные пути, активирующие $\beta 2$ -интегрины (рис. 19.50). Затем активированные интегрины прочно связывают Т-клетку с антигенпрезентирующей клеткой, что обеспечивает достаточно длительный контакт, приводящий к полной стимуляции. Интегрины затем могут вернуться в неактивное состояние, позволяя Т-клетке отделиться.

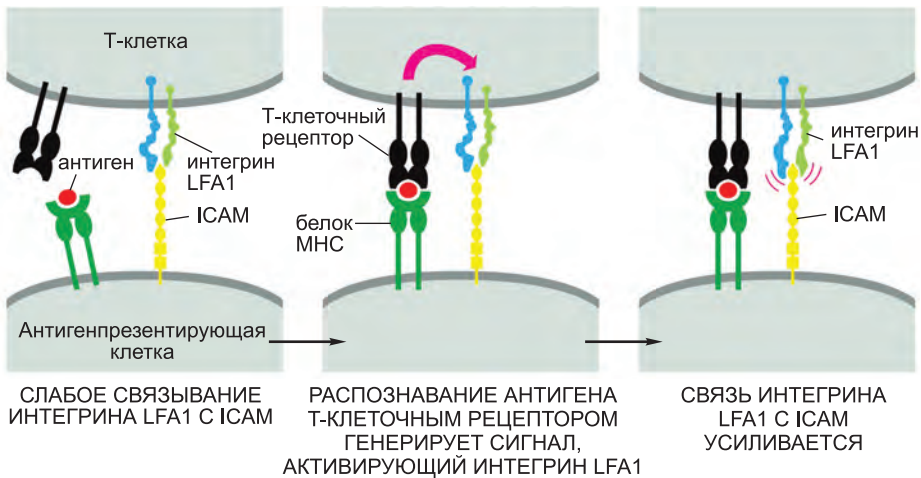


Рис. 19.50. Активация интегрина при взаимодействии Т-лимфоцита с антигенпрезентирующей клеткой. Сначала интегрин LFA1 на поверхности Т-лимфоцита непрочно связывается с иммуноглобулином ICAM, находящимся в мембране антигенпрезентирующей клетки. В случае если Т-клеточный рецептор распознает антиген, представляемый молекулой МНС на поверхности антигенпрезентирующей клетки, генерируется внутриклеточный сигнал, активирующий интегрин LFA1. В результате этого связь между LFA1 и ICAM становится намного прочнее. Теперь у антигенпрезентирующей клетки есть время, чтобы активировать Т-клетку и вызвать специфический иммунный ответ. (Из K. Murphy et al., *Janeway's Immunobiology*, 7th ed. New York: Garland Science, 2008, с изменениями.)

19.5.4. Интегрины группируются, образуя прочные контакты

Подобно другим молекулам клеточной адгезии, интегрины отличаются от рецепторов гормонов и других внеклеточных растворимых сигнальных молекул более низким сродством к лиганду и, как правило, их концентрация на поверхности клеток в 10–100 раз выше. Здесь также работает принцип «застежки». Прочное соединение обеспечивается кластеризацией интегринов, формирующих бляшку, на которой закорено множество филаментов цитоскелета, так же как в случае десмосом в эпидермисе или фокального контакта между фибробластом и дном чашки Петри. В случае фокальных контактов и, возможно, в случае других, менее выраженных актин-опосредованных контактов клетки с матриксом (сюда относятся

большинство контактов клетки с матриксом в нормальных тканях), в созревании адгезионного комплекса принимает участие малая GTPаза Rho, что способствует накоплению актина и интегринов в точке прикрепления. Интегрины, искусственно лишённые внутриклеточного домена, не могут образовать связь с филаментами цитоскелета, не способны к кластеризации, и не образуют прочных соединений.

19.5.5. Прикрепленные к внеклеточному матриксу соединения действуют через интегрины на деление и выживание клеток

Подобно другим трансмембранным белкам клеточной адгезии, интегрины не только создают механическую связь. Они также активируют внутриклеточные сигнальные пути, что позволяет им влиять практически на любой аспект поведения клетки согласно тому, какой матрикс ее окружает и с какими клетками она связана.

Исследования клеток в культуре свидетельствуют о том, что многие клетки не растут и не пролиферируют, если они не связаны с внеклеточным матриксом; питательных веществ и растворимых факторов роста в среде оказывается для этого недостаточно. В случае, например, эпителиальных, эндотелиальных и мышечных клеток само выживание клеток зависит от наличия таких контактов. Если эти клетки теряют связь с внеклеточным матриксом, они погибают путем программируемой клеточной гибели, или апоптоза. Эта зависимость роста клеток, их пролиферации и выживания от наличия связи с субстратом опосредована в основном **интегринами** и внутриклеточными сигналами, которые они генерируют. Считают, что благодаря такой зависимости каждая клетка выживает и делится только в подходящих для этого условиях. Мутации, нарушающие это правило или позволяющие обойти его, приводят к появлению раковых клеток и играют основную роль при метастазировании.

Распластывание клеток на матриксе также в большой степени влияет на внутриклеточные события. Клетки, вынужденные занять большую область на поверхности из-за множества образованных ими контактов в удаленных друг от друга точках, лучше выживают и быстрее пролиферируют, чем клетки, не столь сильно распластанные (рис. 19.51). Возможно, стимулирующее влияние распластывания помогает тканям регенерировать после повреждения. Если, например, многие клетки эпителия утеряны, то вытягивание оставшихся клеток, пытающихся заполнить пустое пространство, будет стимулировать их пролиферацию, пока они не ликвидируют разрыв. Неясно, как клетка чувствует степень своей распластности, чтобы изменить согласно ей свое поведение, однако способность распластываться зависит от интегринов, и сигналы, вырабатываемые интегринами в точках прикрепления, должно быть, играют свою роль в стимуляции деления распластанных клеток.

Наше понимание зависимости жизнедеятельности клетки от прикрепления к субстрату и влияния распластывания клеток опирается в основном на исследования клеток, культивируемых в чашках Петри на поверхности, покрытой матриксом. В случае клеток соединительной ткани, которые обычно окружены матриксом со всех сторон, это слишком грубая модель естественного окружения. Прогуливаться по равнине — совсем не то же самое, что продираться сквозь джунгли. Типы контактов, которые клетки устанавливают с жестким субстратом, не совпадают с теми гораздо менее изученными контактами, которые они вынуждены образовывать с паутиной волокон внеклеточного матрикса, и поведение клеток в этих случаях сильно отличается. Тем не менее в обоих случаях действуют одни и те же основные

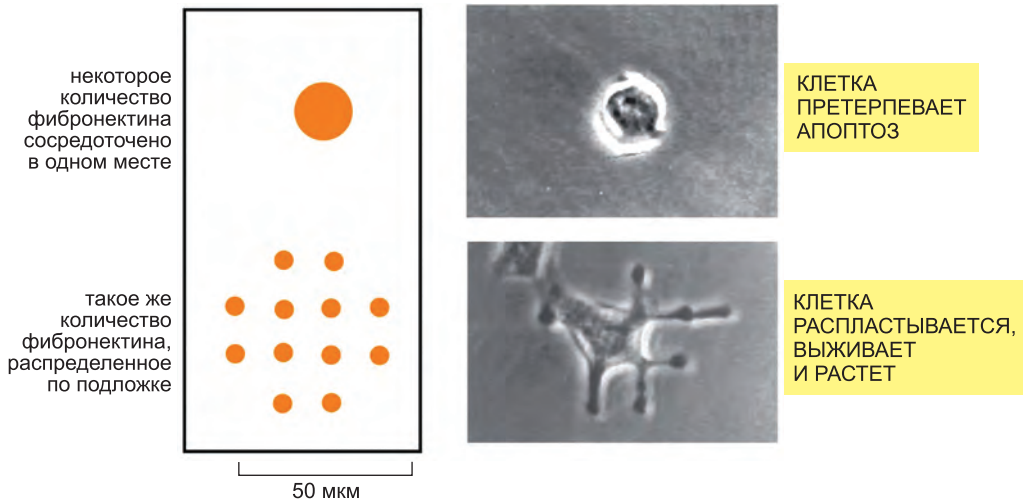


Рис. 19.51. Эксперимент, показывающий важность распластывания клетки на подложке. Показано, что рост и выживание клетки в большей степени зависит от ее распластывания на субстрате, а не от самого факта прикрепления и не от количества сайтов прикрепления к матриксу. (По С. S. Chen et al., *Science* 276: 1425–1428, 1997. С разрешения издательства AAAS.)

принципы. Как *in vitro*, так и *in vivo* внутриклеточные сигналы, генерируемые ассоциированными с интегринными белковыми комплексами в точке прикрепления, играют принципиальную роль для пролиферации и выживания клеток.

19.5.6. Интегрины привлекают внутриклеточные сигнальные белки к точкам прикрепления клетки к субстрату

Механизмы, с помощью которых интегрины подают сигналы внутрь клетки, сложны. В них задействовано несколько различных сигнальных путей: интегрины и обычные рецепторы сигнала часто влияют друг на друга и работают совместно, регулируя, как мы уже отмечали, поведение клетки. Ras/МАР-киназный путь (см. рис. 15.61), например, может быть активирован как обычными сигнальными рецепторами, так и интегринными, однако, чтобы начать пролиферировать, многие клетки должны подвергнуться стимуляции обоих типов. Интегрины и обычные сигнальные рецепторы также кооперируют при активации других аналогичных путей, способствующих выживанию клеток (см. главы 15 и 17).

Один из наиболее изученных режимов сигнальной активности интегринов связан с цитоплазматической тирозинкиназой, называемой **протеинкиназой фокальной адгезии** (focal adhesion kinase, **ФАК**). В обычной культуре на жестком субстрате многие фокальные контакты клеток представляют собой области, где тирозин в белках сильно фосфорилирован (рис. 19.52, а), и ФАК является одним из основных фосфорилированных по тирозину белков, обнаруженных в этих участках. При кластеризации интегринов в точках соединения клетки с матриксом ФАК связывается внутриклеточными якорными белками, например, талином (связывающимся с β -субъединицей интегрин) или *паксиллином*, который связывается с одним из видов α -субъединиц. Кластеризованные молекулы ФАК взаимно фосфорилируют друг друга по особому тирозину, формируя сайт связывания цитоплазматических

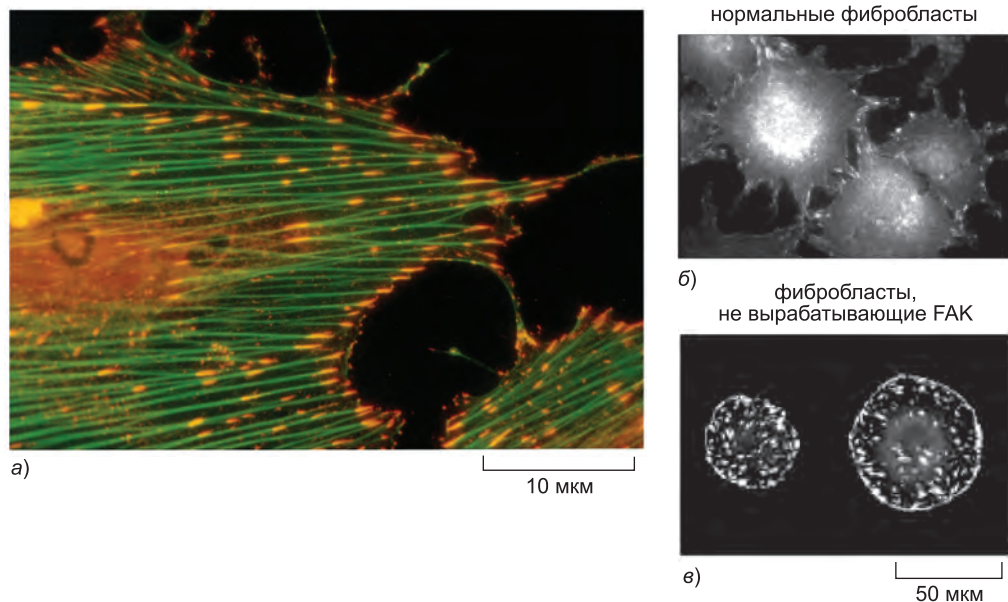


Рис. 19.52. Фокальные контакты и роль киназы фокальных контактов (FAK, focal adhesion kinase). а) Фибробласт на покрытой фибронектином подложке, окрашенный флуоресцентными антителами. Актиновые филаменты окрашены в зеленый, а активированные белки, фосфорилированные по тирозину, — в красный; перекрытие этих цветов дает оранжевый цвет. Актиновые филаменты заканчиваются на фокальных контактах, прикрепляющих клетку к субстрату с помощью интегринов. Здесь же скапливаются белки, фосфорилированные по тирозину. Это свидетельствует о локальной активации FAK и других протеинкиназ. Сигналы, генерируемые в этих точках прикрепления, участвуют в регуляции деления и роста клеток и влияют на их выживание. б, в) Сравнение нормальных фибробластов и фибробластов, у которых отсутствует FAK, при окрашивании антителами к винкулину (окраска на фокальные контакты) выявляет роль FAK в образовании фокальных контактов. б) Нормальные фибробласты образуют меньше фокальных контактов и распластаются на подложке в течение 2 часов инкубирования в культуре. в) За то же время фибробласты, не вырабатывающие FAK, образуют больше фокальных контактов и не распластаются. (а, фотография предоставлена Keith Burridge; б и в — из D. Ilic et al., *Nature*, 377: 539–544, 1995. С разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

тирозинкиназ семейства Src. Помимо фосфорилирования других белков в сайте адгезии, эти киназы дополнительно фосфорилируют FAK по еще одному тирозину, создавая сайт связывания для разнообразных внутриклеточных сигнальных белков. Таким образом, внешний сигнал от интегринов через FAK и киназы семейства Src передается внутрь клетки (см. обсуждение в главе 15).

Один из методов исследования функции FAK заключается в изучении фокальных контактов в клетках мутантных мышей, у которых нет этого белка. Дефицитные по FAK фибробласты могут тем не менее устанавливать связь с фибронектином и формировать фокальные контакты. Более того, они образуют слишком много фокальных контактов; в результате этого распластывание и миграция клетки замедляются (рис. 19.52, б и в). Эта неожиданная находка свидетельствует о том, что FAK в норме способствует разрыву фокальных контактов и что эти разрывы необходимы для нормальной миграции клеток. Многие раковые клетки имеют повышенный уровень FAK, что объясняет, почему они зачастую более подвижны, чем нормальные клетки.

19.5.7. Интегрины могут вызывать локализованные внутриклеточные эффекты

Посредством FAK и других сигнальных путей, активированные интегрины, подобно другим сигнальным рецепторам, могут вызывать генерализованный клеточный ответ, при котором часто меняется характер экспрессии генов. Однако интегрины особенно уместны для стимуляции локальных изменений цитоплазмы вблизи от них самих. Мы уже упоминали важный пример такого влияния, когда обсуждали поляриность эпителиальных клеток: базальная мембрана влияет на апикально-базальную ориентацию клетки именно через интегрины.

Локальные внутриклеточные влияния, возможно, являются общей характеристикой всех сигнальных путей, затрагивающих белки клеточной адгезии. Например, в развивающейся нервной системе растущий конец аксона выбирает направление, в основном ориентируясь на локальные адгезивные (и отталкивающие) вещества в окружении, которые распознаются трансмембранными белками клеточной адгезии (см. главу 22). Считают, что первичное влияние белков адгезии является результатом активации внутриклеточных сигнальных путей, действующих локально в кончике аксона, а не результатом установления контакта как такового и не результатом сигналов, идущих к телу нейрона. К примеру, как обсуждалось в главе 15, посредством локальной активации малых GTPаз из семейства Rho трансмембранные белки адгезии могут контролировать подвижность и направлять движение клеток. Так или иначе, практически все упомянутые нами классы молекул клеточной адгезии, участвующих в межклеточных контактах и соединениях клеток с матриксом, включая интегрины, влияют на выбор направления роста аксона при развитии нервной системы.

В **таблице 19.5** суммированы категории молекул клеточной адгезии, рассматриваемые нами в этой главе. В следующем разделе мы отойдем от рассмотрения молекул адгезии в клеточной мембране и подробно обсудим внеклеточный матрикс, окружающий клетки соединительной ткани.

Заключение

Интегрины представляют собой основные рецепторы, которые используются клетками животных для установления связи с внеклеточным матриксом: они действуют как трансмембранные линкеры между внеклеточным матриксом и цитоскелетом. При этом они связаны, как правило, с актином, однако особые интегрины в полудесмосомах могут быть связанными с промежуточными филаментами. Молекулы интегринов являются гетеродимерами, а связывание лигандов вызывает сильные изменения конформации. На этом основано аллостерическое сопряжение между связыванием матрикса вне клетки и связыванием с цитоскелетом внутри. Такое сопряжение позволяет интегрину передавать сигналы через мембрану клетки в обоих направлениях — изнутри наружу и снаружи внутрь. Связывание внутриклеточного якорного белка талина с хвостовой частью молекулы интегрин стремится перевести интегрин в вытянутую конформацию, имеющую повышенное сродство к своему внеклеточному лиганду. И наоборот, связывание внеклеточного лиганда, способствуя тем же самым структурным перестройкам, приводит к связыванию талина и образованию связи с актиновым цитоскелетом. Вокруг внутриклеточных доменов интегринов формируются белковые комплексы, вырабатывающие внутриклеточные сигналы,

Таблица 19.5. Семейства молекул клеточной адгезии

| | НЕКОТОРЫЕ ПРЕДСТАВИТЕЛИ | ЗАВИСИМОСТЬ ОТ Ca ²⁺ ИЛИ Mg ²⁺ | ГОМО- ИЛИ ГЕТЕРОФИЛЬНОЕ СВЯЗЫВАНИЕ | СВЯЗЬ С ЦИТОСКЕЛЕТОМ | УЧАСТИЕ В КЛЕТОЧНЫХ КОНТАКТАХ |
|---|-----------------------------|--|------------------------------------|---|---------------------------------|
| <i>Межклеточные соединения</i> | | | | | |
| Классические кадгерины | E, N, P, VE | да | гомофильное | актиновые филаменты (через катенины) | адгезионные соединения, синапсы |
| Кадгерины десмосом | десмоглейн, десмоколлин | да | гомофильное | промежуточные филаменты (через десмоплакин, плакоглобин и плакофилин) | десмосомы |
| Представители семейства иммуноглобулинов | N-CAM, ICAM | нет | оба способа | неизвестно | нервные и иммунные синапсы |
| Селектины (только клетки крови и эндотелиоциты) | L-, E- и P-селектины | да | гетерофильное | актиновые филаменты | не выражено |
| Интегрины клеток крови | α L β 2 (LFA1) | да | гетерофильное | актиновые филаменты | иммунные синапсы |
| <i>Контакты клеток с матриксом</i> | | | | | |
| Интегрины | многие типы | да | гетерофильное | актиновые филаменты (через талин, паксиллин, филамин, α -актинин и винкулин) | фокальные контакты |
| | α β 4 | да | гетерофильное | промежуточные филаменты (через плектин и дистонин) | полудесмосомы |
| Трансмембранные протеогликаны | синдеканы | нет | гетерофильное | актиновые филаменты | не выражено |

способные влиять почти на все аспекты жизнедеятельности клетки, от пролиферации и выживания до полярности клеток и выбора направления миграции.

19.6. Внеклеточный матрикс соединительных тканей животных

Мы уже говорили, что базальная мембрана — неотъемлемый компонент эпителиальной ткани — являет собой пример внеклеточного матрикса и свойственна всем многоклеточным животным. Теперь мы обратимся к внеклеточному матриксу соединительных тканей, занимающему гораздо больший объем и принимающему разнообразные формы (рис. 19.53). В этих тканях объем внеклеточного матрикса, как правило, превышает объем окруженных им клеток, и это определяет физические свойства ткани.

Внеклеточный матрикс в животных тканях формируют, по большому счету, макромолекулы одних и тех же классов, независимо от того, идет ли речь о базальной мембране или о других формах матрикса, однако вариации пропорций между разными классами молекул, а также способов их организации, приводят

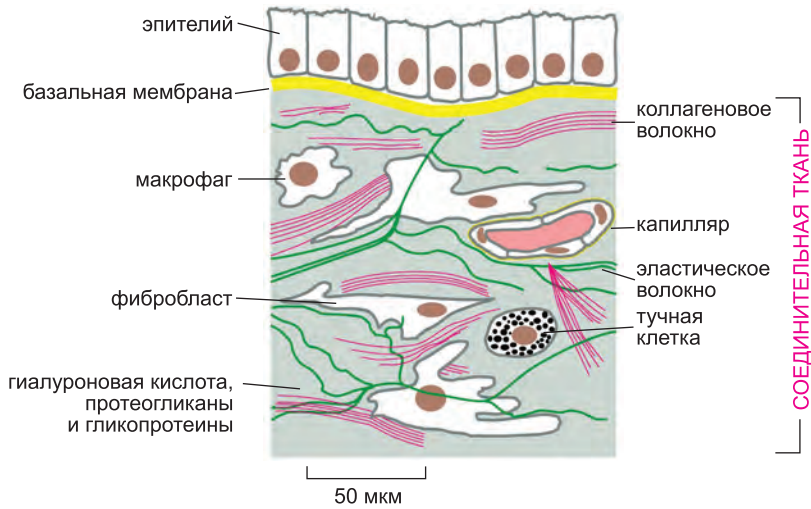


Рис. 19.53. Соединительная ткань, подстилающая эпителий. В ее состав входят различные клетки и компоненты внеклеточного матрикса. Клетки представлены в основном фибробластами, секретирующими матрикс в большом количестве.

к поразительному разнообразию материалов. Матрикс может обызвестляться, образуя твердые, как камень, структуры кости или зуба, может формировать прозрачное вещество роговицы глаза или принимать форму каната, что придает сухожилиям огромную прочность на разрыв. Он образует студенистое вещество медузы, а также твердый панцирь, покрывающий тело жука или омара. Более того, роль внеклеточного матрикса не сводится к функции пассивного остова, обеспечивающего физическую поддержку. Он играет активную и сложную роль в регуляции поведения клеток, которые с ним соприкасаются, живут в нем либо мигрируют по его ячейкам. Матрикс оказывает влияние на выживание, развитие, миграцию, деление, форму и функцию этих клеток.

В этом разделе мы сосредоточимся на обсуждении внеклеточного матрикса соединительных тканей позвоночных, однако формы внеклеточного матрикса, занимающие большой объем, играют важную роль практически у всех многоклеточных организмов. В качестве примеров можно привести кутикулы червей и насекомых, клеточные стенки грибов и, как мы обсудим ниже, клеточные стенки растений.

19.6.1. Внеклеточный матрикс вырабатывают и упорядочивают находящиеся в нем клетки

Макромолекулы, из которых состоит внеклеточный матрикс, производятся в основном локально клетками, окруженными этим матриксом. Как мы увидим, эти клетки также способствуют упорядочиванию матрикса: ориентация цитоскелета внутри клетки может контролировать ориентацию вырабатываемого внеклеточного матрикса. В большинстве соединительных тканей макромолекулы матрикса секретируются, по большей части **фибробластами** (рис. 19.54). Однако в определенных специализированных соединительных тканях, таких как хрящ или кость, эту функцию выполняют особые клетки, подобные фибробластам и имеющие собственные названия: например, хрящ образуют *хондробласты*, а кость — *остеобласты*.

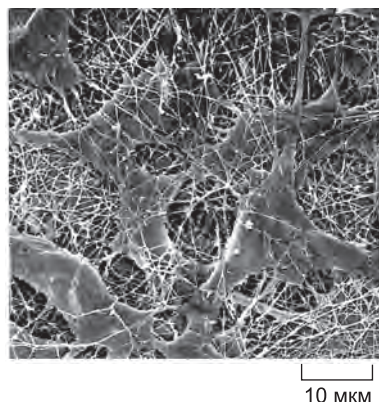


Рис. 19.54. Фибробласты в соединительной ткани. На этой микрофотографии, полученной методом сканирующей электронной микроскопии, представлена ткань роговицы глаза крысы. Здесь внеклеточный матрикс, окружающий фибробласты, состоит в основном из коллагеновых фибрилл. Гликопротеины, гиалуроновая кислота и протеогликаны, которые обычно образуют гидратированный гель в промежутках между волокнами, удалены воздействием ферментов в кислой среде. (Из T. Nishida et al., Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 29: 1887–1890, 1988. С разрешения Association for Research in Vision and Ophthalmology.)

Матрикс в соединительной ткани формируют те же два главных класса макромолекул, что и в случае базальной мембраны: (1) полисахариды гликозаминогликаны, обычно ковалентно сшитые с белком и формирующие протеогликаны, и (2) фибриллярные белки, например коллаген. Как мы увидим, представители обоих классов сильно различаются по форме и размеру.

Молекулы протеогликанов в соединительных тканях, как правило, образуют сильно гидратированное гелеподобное «основное вещество», в которое погружены фибриллярные белки. Полисахаридный гель обеспечивает механическое сопротивление ткани, одновременно позволяя питательным веществам, метаболитам и гормонам быстро переходить из кровеносного русла в клетки ткани и обратно. Коллагеновые волокна усиливают матрикс и упорядочивают его, а другие фибриллярные белки, например *эластин*, придают ему упругость. Наконец, многие белки матрикса помогают клеткам достичь своего места назначения, осесть в нем и дифференцироваться.

19.6.2. Гликозаминогликановые цепи (GAG) занимают много места и формируют гидратированный гель

Гликозаминогликаны (GAG) представляют собой неветвящиеся полисахаридные цепочки повторяющихся дисахаридных остатков. Называются они так потому, что один из двух остатков в повторяющемся дисахариде всегда представляет собой аминокислоту (*N*-ацетилглюкозамин или *N*-ацетилгалактозамин). В большинстве случаев один из этих аминокислотных остатков сульфатирован, а второй представляет собой уроновую кислоту (глюкуроновую или идуоновую). Наличие у многих сахарных остатков сульфатных или карбоксильных групп придает гликозаминогликанам большой отрицательный заряд (**рис. 19.55**); это наиболее отрицательно заряженные молекулы, вырабатываемые клетками животных. По типу сахарных остатков, типу связей между ними, а также по числу и положению сульфатных групп различают четыре главные группы гликозаминогликанов; это 1) *гиалуроновая кислота*, 2) *хондроитинсульфат* и *дерматансульфат*, 3) *гепарансульфат* и 4) *кератансульфат*.

Полисахаридные цепи слишком жесткие и не могут свернуться в компактную глобулу, подобно многим другим полипептидам. Таким образом, гликозаминогликаны стремятся принять вытянутую конформацию, занимая огромный для своей массы объем (**рис. 19.56**) и образуют гели даже в очень низких концентрациях. Количество гликозаминогликанов в соединительной ткани обычно составляет менее 10% от содержания фибриллярных белков. Однако благодаря своей способности к гелеобразованию гликозаминогликановые цепи занимают большую часть внеклеточного пространства. Благодаря высокой плотности отрицательных зарядов их молекулы притягивают мно-

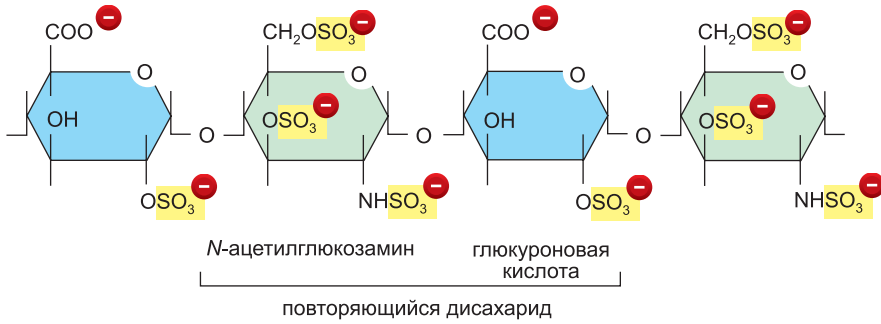


Рис. 19.55. Повторяющаяся дисахаридная последовательность гепарансульфата. Цепочки этого гликозаминогликана могут содержать вплоть до 200 дисахаридных единиц, однако обычно ее длина не превышает и половины этого значения. Благодаря карбоксильным и сульфатным группам вдоль цепи скапливается отрицательный заряд. Все протеогликаны базальной мембраны: перлекан, дистрогликан и коллаген XVIII типа, — несут на себе цепочки гепарансульфата. Представленная на рисунке молекула содержит максимальное число сульфатных групп. *In vivo* доля сульфатированных и несulfатированных групп изменяется. Например, гепарин содержит более 70% сульфатированных групп, а гепарансульфат — менее 50%.

жество таких осмотически активных ионов, как Na^+ , что ведет к насыщению в матрикс большого количества воды. Это создает давление (тургорное давление), позволяющее матриксу противостоять сжимающим силам (в противоположность коллагеновым волокнам, противодействующим растяжению). Например, матрикс хряща, выстилающего коленный сустав, может выдерживать давление в несколько сот атмосфер.

Нарушения выработки гликозаминогликанов могут сказываться на различных системах органов. К примеру, у больных одним редким генетическим заболеванием нарушен синтез дисахаридной единицы дерматансульфата. Для таких пациентов характерен низкий рост, они выглядят преждевременно состарившимися и страдают от различных дефектов кожи, суставов, мышц и костей.

У беспозвоночных, растений и грибов во внеклеточном матриксе зачастую преобладают не гликозаминогликаны, а другие типы полисахаридов. Так, у высших растений, как мы обсудим далее, основной компонент клеточной стенки образован целлюлозными (полиглюкозными) цепочками, плотно упакованными наподобие лент. У насекомых, ракообразных и других членистоногих в роли главного компонента экзоскелета выступает хитин (поли-*N*-ацетилглюкозамин). Грибы также строят свою клеточную стенку в основном из хитина. Целлюлоза и хитин являются самыми распространенными биополимерами на Земле.



Рис. 19.56. Относительные размеры различных молекул. Показаны несколько белков, гранула гликогена и отдельная молекула гиалуроновой кислоты. MM — молекулярная масса.

19.6.3. Гиалуронаны действуют как пространственный фильтр и облегчают миграцию клеток при морфогенезе ткани и ее восстановлении

Гиалуронан (также называемый *гиалуроново́й кислотой*, или *гиалуронатом*) является простейшим гликозаминогликаном (рис. 19.57). Он состоит из регулярной последовательности длиной до 25000 дисахаридных остатков, обнаружен в разном количестве во всех тканях и жидкостях взрослого животного и особенно хорошо выражен у эмбрионов на ранних стадиях развития. В отличие от других гликозаминогликанов, он не содержит сульфатированных сахаров, все его дисахаридные остатки идентичны, цепочки его необычайно длинны (тысячи мономеров) и, как правило, не связаны ковалентно с каким-либо белком. Более того, другие гликозаминогликаны синтезируются внутри клетки и выходят наружу путем экзоцитоза, а гиалуронан синтезируется непосредственно на поверхности клетки ферментным комплексом, находящимся в плазматической мембране.

Считается, что гиалуронан обеспечивает дополнительное сопротивление силам сжатия в тканях и суставах. В процессе эмбрионального развития он заполняет пространство, стимулируя морфогенез, поскольку малое его количество, всасывая воду, расширяется и занимает большой объем (см. рис. 19.56). Гиалуронан, синтезированный локально с базальной стороны эпителия, может его деформировать, создавая в этом месте бесклеточное пространство, куда клетки могут мигрировать. Например, в развивающемся сердце синтез гиалуронана таким образом способствует формированию клапанов и перегородок между камерами сердца. Аналогичные процессы происходят и в некоторых других органах. Когда миграция клеток прекращается, избыточный гиалуронан удаляется с помощью фермента *гиалуронидазы*. Кроме того, гиалуронан вырабатывается в больших количествах при заживлении ран и является важным компонентом суставной жидкости, действующей как смазка.

При выполнении многих своих функций гиалуронан специфически взаимодействует с другими молекулами, в том числе белками и протеогликанами. Неко-

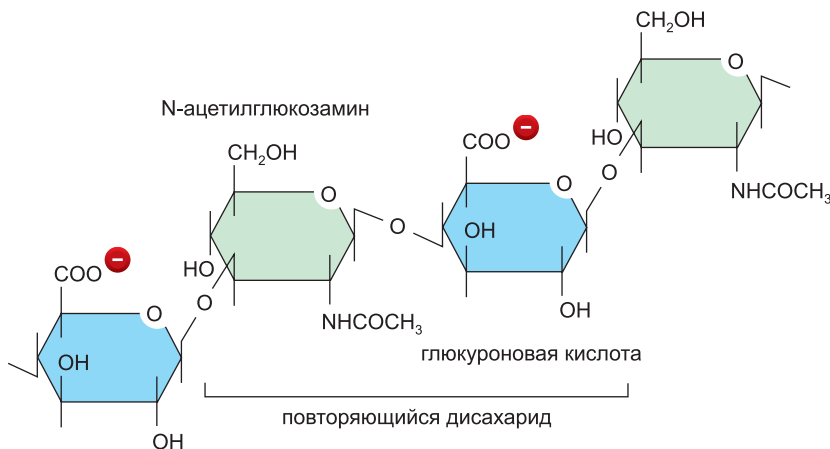


Рис. 19.57. Повторяющаяся дисахаридная последовательность гиалуроново́й кислоты относительно просто устроенного гликозаминогликана. Эта широко распространенная у позвоночных молекула состоит из единственной длинной цепи, включающей вплоть до 25000 остатков сахара. Обратите внимание на отсутствие сульфатных групп.

торые из этих молекул являются компонентами внеклеточного матрикса, а другие фиксированы на поверхности клеток.

19.6.4. Протеогликаны представляют собой гликозаминогликановые цепи, ковалентно сшитые с белком

За исключением гиалуроновой кислоты, все гликозаминогликаны ковалентно связаны с белком в форме протеогликанов. Протеогликаны вырабатываются большинством животных клеток. Кóровый белок протеогликана синтезируется на рибосомах, связанных с мембранами, и «протаскивается» через мембрану в просвет эндоплазматического ретикулума. Полисахаридные цепи добавляются к белку, главным образом в аппарате Гольджи, до момента их экзоцитоза. Первым к сериновому остатку этого белка присоединяется специальный *линкерный трисахарид*, служащий «затравкой» для роста полисахарида; затем с помощью специфических гликозилтрансфераз один за другим добавляются сахарные остатки (рис. 19.58). По мере удлинения цепи в аппарате Гольджи многие из полимеризованных сахарных остатков ковалентно модифицируются в результате ряда последовательных и координированных реакций: эпимеризации, изменяющей конфигурацию функциональных групп вокруг одного из углеродных атомов в молекуле сахара, и сульфатирования. Последнее сильно увеличивает отрицательный заряд протеогликанов.

Протеогликаны, как правило, отличаются от других гликопротеинов природой, числом и расположением сахарных боковых цепей. По определению, как минимум

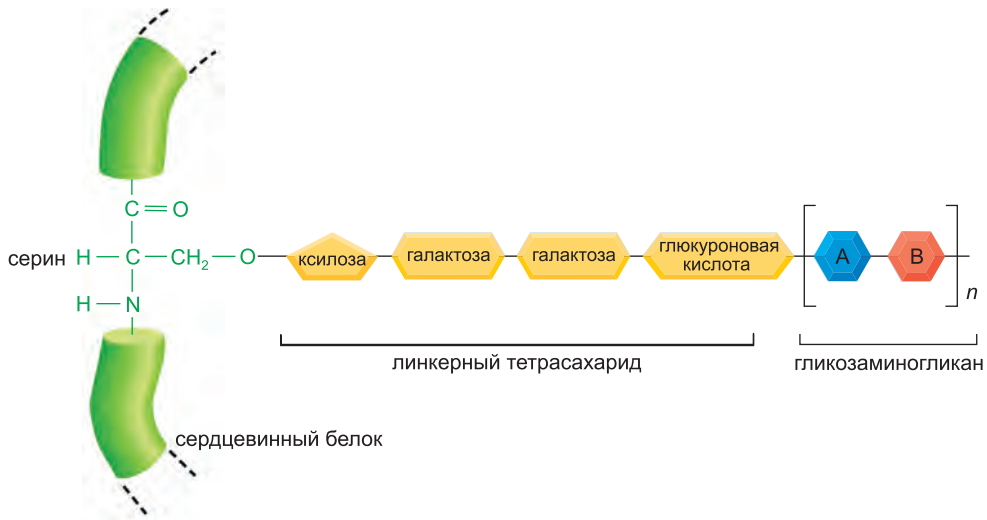


Рис. 19.58. Образование связи гликозаминогликановой цепи с белком в молекуле протеогликана. Сначала особый линкерный тетрасахарид связывается с боковой цепью серина. В большинстве случаев неясно, как выбирается конкретный сериновый остаток, однако, судя по всему, распознается скорее специфическая конформация полипептидной цепочки, а не линейная последовательность аминокислотных остатков. Затем, сахар за сахаром, из повторяющихся дисахаридных единиц синтезируется остальная часть гликозаминогликановой цепи. В состав дисахаридной субъединицы хондроитинсульфата входят D-глюкуроновая кислота и N-ацетил-D-галактозамин; в случае гепарансульфата это D-глюкозамин (или L-идуроновая кислота) и N-ацетил-D-глюкозамин; у кератансульфата это D-галактоза и N-ацетил-D-глюкозамин.

одна сахарная боковая цепь протеогликана должна представлять собой гликозаминогликан. Гликопротеины содержат от 1% до 60% углеводов по массе (обычно лишь несколько процентов), в форме многочисленных коротких, разветвленных олигосахаридных цепочек, а массовая доля углеводов в протеогликах может составлять до 95%, в основном в виде длинных, неразветвленных гликозаминогликановых цепей, каждая длиной около 80 остатков сахара.

В принципе, строение протеогликов допускает почти неограниченное разнообразие. Количество гликозаминогликановых цепей, связанных с одним и тем же белком, так же как их строение, может варьироваться в очень широких пределах. Более того, повторяющаяся последовательность дисахаридов в каждой цепи может сложным образом модифицироваться при сульфатировании. Разнообразие коровых белков также очень велико, хотя многие из них обладают сходными характерными доменами, например, LINK-доменом, участвующим в связывании гликозаминогликановых цепочек.

Размер протеогликов может быть очень велик. К примеру, протеогликан *агрекан*, являющийся основным компонентом хряща, имеет массу около 3×10^6 Да и более 100 гликозаминогликановых цепей. Другие протеоглики гораздо меньше и имеют от одной до десяти гликозаминогликановых цепей; в качестве примера можно привести *декорин* с единственной гликозаминогликановой цепочкой, секретируемый фибробластами (рис. 19.59). Декорин связывается с коллагеновыми фибриллами и регулирует их сборку и диаметр; у мышей, неспособных к выработке декорина, кожа легко повреждается, так как имеет низкий предел прочности. Различные гликозаминогликаны и протеоглики во внеклеточном матриксе могут собираться в еще большие полимерные комплексы. Например, молекулы агрекана и гиалуроновой кислоты формируют в матриксе хряща комплексы размером с бактерию (рис. 19.60). Более того, помимо комплексов друг с другом, гликозаминогликаны и протеоглики могут связываться с фибриллярными белками матрикса, например с коллагеном, и с белковыми сетями, такими как базальная мембрана, создавая чрезвычайно сложные композиты (рис. 19.61).

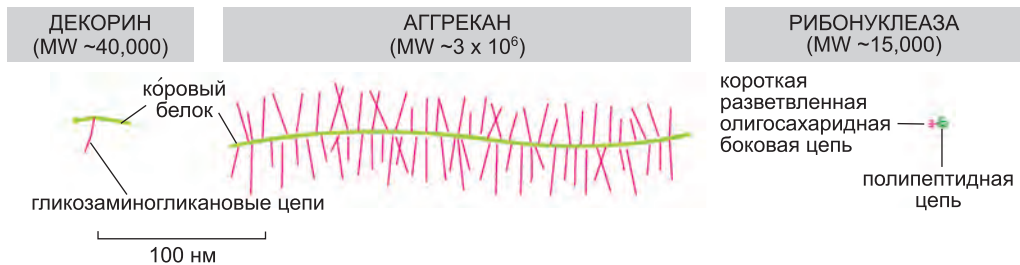
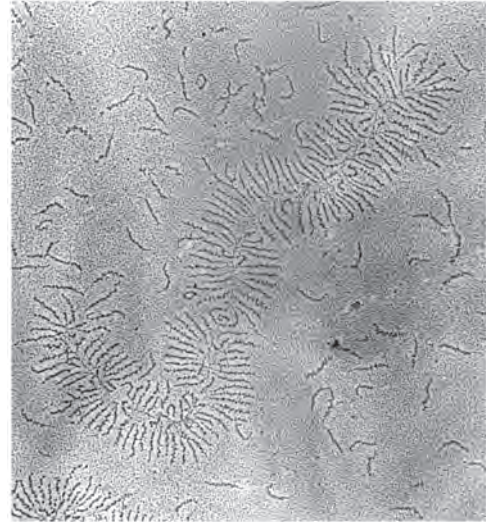


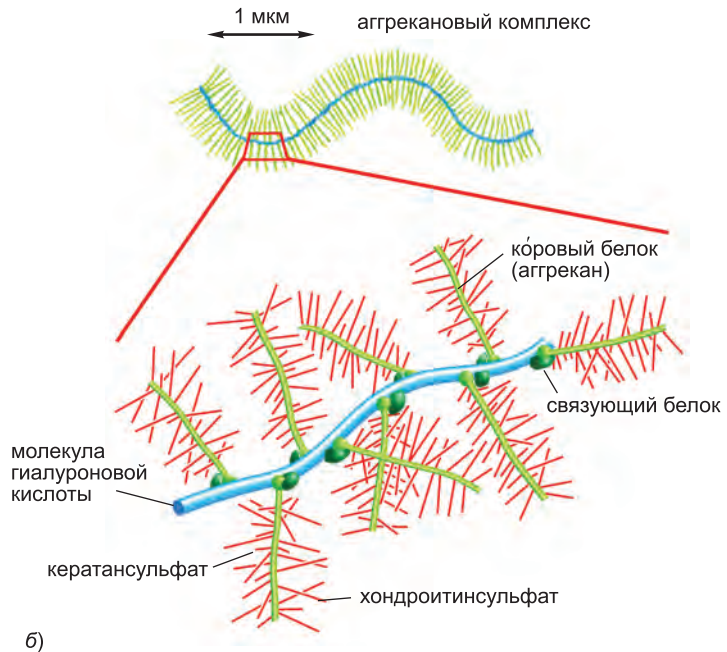
Рис. 19.59. Примеры протеогликов матрикса с малой (декорин) и большой (агрекан) молекулярными массами. На рисунке, кроме этих протеогликов, приведен типичный секретируемый гликопротеин — панкреатическая рибонуклеаза В. Все молекулы нарисованы в одном масштабе. Коровые белки агрекана и декорина несут на себе, помимо гликозаминогликановых, олигосахаридные цепи (не показаны). В состав агрекана обычно входит около 100 цепочек хондроитинсульфата и около 30 цепочек кератансульфата, связанных с белком длиной почти 3000 аминокислотных остатков, среди которых много остатков цистеина. Декорин «украшает» поверхность коллагеновых фибрилл; отсюда его название. MW — молекулярная масса в Да.

Рис. 19.60. Агрекановый комплекс из хряща бычьего зародыша. а) Электронная микрофотография агреканового комплекса, полученная при напылении платиной. Также можно различить несколько свободных молекул агрекана. б) Схема гигантского агреканового комплекса, представленного на рисунке (а). В состав комплекса входит примерно 100 молекул агрекана (каждая подобна изображенной на рис. 19.59), у которых N-концевой домен сердцевинного белка нековалентно связан с одной и той же цепью гиалуроновой кислоты. Связующий белок присоединен и к белку протеогликана, и к гиалуроновой цепи, стабилизируя комплекс. Связующие белки являются представителями семейства гиалуронан-связывающих белков; некоторые из белков этого семейства расположены на поверхности клетки. Молекулярная масса такого комплекса может составлять до 10^8 и выше, а занимаемый им объем равняется объему бактериальной клетки, то есть около $2 \times 10^{-12} \text{ см}^3$. (Электронная микрофотография любезно предоставлена Lawrence Rosenberg.)



а)

1 мкм



б)

19.6.5. Протеогликаны могут регулировать активность секретируемых белков

Функции протеогликанов столь же многочисленны, сколь разнообразно их химическое строение. Их гликозаминогликановые цепочки, например, могут формировать гели с различным размером ячеек и плотностью зарядов. Следовательно, они могут служить селективными фильтрами, регулирующими движение молекул и клеток согласно их размерам и заряду, как в случае толстой базальной мембраны почечных клубочков (см. [стр. 1979](#)).

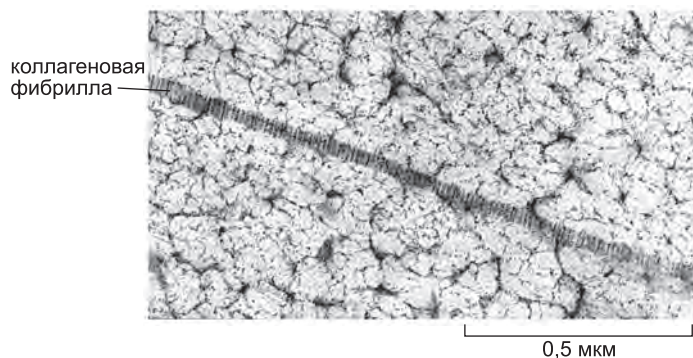


Рис. 19.61. Протеогликаны внеклеточного матрикса хряща крысы. Образец ткани быстро замораживали при -196°C , затем фиксировали и окрашивали, не размораживая (такой прием носит название метода замораживания-замещения). Это позволяет избежать слипания гликозаминогликановых цепочек. На этой электронной микрофотографии молекулы протеогликана образуют тонкую волокнистую сеть, в которую погружена одна поперечно-исчерченная коллагеновая фибрилла. Более темные участки соответствуют коровым белкам протеогликанов, а расплывчатое гало вокруг них — гликозаминогликановые цепи. (Переснято с E. V. Hunziker and R. K. Shenk, *J. Cell Biol.* 98: 277–282, 1984. С разрешения издательства The Rockefeller University Press.)

Протеогликаны играют важную роль в передаче химических сигналов от клетки к клетке. Они связывают различные сигнальные молекулы, например некоторые белковые факторы роста, контролируя их продвижение по матриксу, активность и время жизни, а также способствуя или препятствуя выполнению ими сигнальной функции. Например, гепарансульфатные цепочки протеогликанов связываются с факторами роста фибробластов (*fibroblast growth factors, FGF*), которые, помимо прочего, стимулируют деление различных клеток. В результате такого взаимодействия молекулы фактора роста олигомеризуются и могут образовать ковалентную сшивку с рецепторами на поверхности клеток, что активирует последние. Эти рецепторы представляют собой трансмембранные тирозинкиназы (см. рис. 15.54, *a*). При воспалительной реакции гепарансульфат-содержащие протеогликаны иммобилизуют секретированные хемоаттрактанты, называемые хемокинами (см. главу 25) на эндотелиальной поверхности кровеносного сосуда, задерживая их в точке воспаления. Это позволяет хемокинам оставаться на месте длительное время, стимулируя переход лейкоцитов из кровеносного русла в воспаленную ткань. Сигнальные молекулы связываются с гликозаминогликановыми цепочками протеогликана в большинстве случаев, однако не всегда. Некоторые представители семейства *трансформирующих факторов роста β (TGF β)* связываются с коровыми белками нескольких протеогликанов матрикса, в том числе декорина; связывание с декорином ингибирует активность фактора роста. Сигнальные молекулы (в том числе TGF β) могут также связываться с фибриллярными белками матрикса. Факторы роста эндотелия сосудов (*vascular endothelial growth factor, VEGF*), например, связываются с фибронектином.

Кроме того, протеогликаны связываются, регулируя их активность, с другими секретлируемыми белками, в том числе с протеолитическими ферментами (протеазами) и ингибиторами протеаз. Таким образом, они принимают участие как в сборке, так и в расщеплении других компонентов внеклеточного матрикса, включая коллаген.

19.6.6. Протеогликаны на поверхности клетки действуют как корецепторы

Не все протеогликаны выделяются во внеклеточное пространство. Некоторые из них являются интегральными компонентами плазматической мембраны, причем их белок либо встроен в мембранный бислой, либо прикреплен к мембране с помощью гликозилфосфатидилинозитольного (GPI) якоря. Некоторые из этих мембранных протеогликанов работают как *корецепторы*, действуя совместно с обычными рецепторными белками на поверхности клетки. Кроме того, некоторые обычные рецепторы имеют одну или несколько гликозаминогликановых цепей и, стало быть, сами являются протеогликанами.

Одними из наиболее изученных мембранных протеогликанов являются *синдеканы*, у которых коровый белок пронизывает мембрану, а его внутриклеточный домен взаимодействует, как считается, с актиновым цитоскелетом и сигнальными молекулами в примембранном слое. Синдеканы расположены на поверхности различных клеток, в том числе фибробластов и эпителиальных клеток. Синдеканы принимают участие во взаимодействии фибробластов с матриксом — они изменяют параметры взаимодействия интегринов с фибронектином на клеточной поверхности, а также с сигнальными белками и белками цитоскелета внутри клетки. Кроме того, синдеканы связываются с FGF и доставляют их к FGF-рецепторам той же клетки. Аналогично этому другой мембранный протеогликан, под названием бетагликан, связывает TGF β и доставляет их к TGF β -рецепторам.

Значение протеогликанов как корецепторов и регуляторов распределения и активности сигнальных молекул подтверждает тот факт, что генетическая инактивация протеогликанов влечет за собой тяжелые нарушения развития. Например, у дрозофилы продукты генов *Dally* и *Dally-like*, кодирующих протеогликаны из семейства *гликканов*, с гепарансульфатными боковыми цепями, необходимы для выполнения сигнальной функции по меньшей мере четырьмя основными сигнальными белками, управляющим образованием зародышевых структур (а именно: Wingless, Hedgehog, FGF и Decapentaplegic (Dpp), см. главу 22). В ряде случаев мутации в генах *Dally* и *Dally-like* приводят к тому же фенотипу, что и мутации генов, кодирующих сами сигнальные белки.

Данные о структуре, функциях и локализации некоторых протеогликанов, обсуждаемых в данной главе, суммированы в [таблице 19.6](#).

19.6.7. Коллагены — основные белки внеклеточного матрикса

Фибриллярные белки — не менее важные компоненты внеклеточного матрикса, чем протеогликаны. Среди них в первую очередь выделяются **коллагены** — семейство фибриллярных белков, представители которого обнаружены у всех многоклеточных животных. Коллагены секретируются в больших количествах клетками соединительных тканей, а также, не столь интенсивно, многими другими клетками. Поскольку они являются основным компонентом кожи и костей, у млекопитающих этих белков больше всего: они составляют 25 % массы всех белков.

Молекулы коллагена характеризуются вытянутой, жесткой структурой, образованной тремя коллагеновыми полипептидными цепочками (так называемыми *α -цепями*), закрученными друг вокруг друга в тройную суперспираль наподобие каната ([рис. 19.62](#)). Коллагены очень богаты пролином и глицином: оба этих остатка принципиально важны для образования тройной спирали. Пролин, за счет своей

Таблица 19.6. Некоторые распространенные протеогликаны

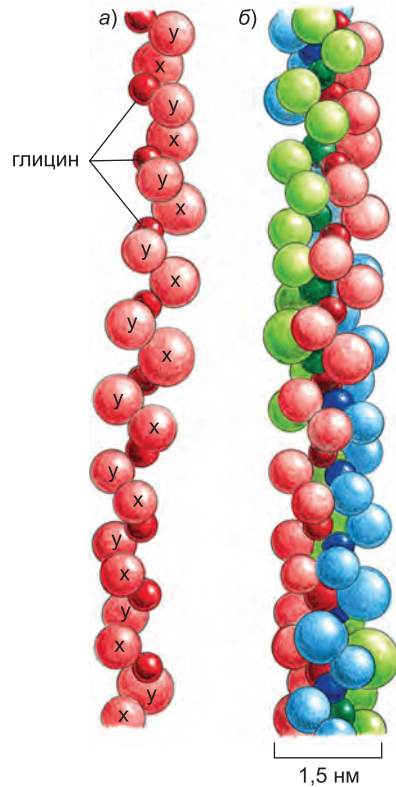
| ПРОТЕО-ГЛИКАН | ПРИБЛИЗИТЕЛЬНАЯ МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА БЕЛКА | ТИП ГЛИКОЗАМИНОГЛИКАНОВОЙ ЦЕПИ | ЧИСЛО ГЛИКОЗАМИНОВЫХ ЦЕПЕЙ | ЛОКАЛИЗАЦИЯ | ФУНКЦИЯ |
|-------------------|--|--|----------------------------|---|--|
| Агрекан | 210 000 | хондроитинсульфат + кератансульфат (в отдельных цепях) | ~130 | хрящ | механическая поддержка; образует большие комплексы с гиалуроновой кислотой |
| Бетагликан | 36 000 | хондроитинсульфат/дерматансульфат | 1 | поверхность клетки и матрикс | связывается с TGFβ |
| Декорин | 40 000 | хондроитинсульфат/дерматансульфат | 1 | часто встречается в соединительных тканях | связывается с фибриллами коллагена I типа и TGFβ |
| Перлекан | 600 000 | гепарансульфат | 2–15 | базальная мембрана | структурная и селективная функция базальной мембраны |
| Синдекан-1 | 32 000 | хондроитинсульфат + гепарансульфат (в отдельных цепях) | 1–3 | поверхность клетки | клеточные контакты; связывается с FGF и другими факторами роста |
| Dally (у дрожжей) | 60 000 | гепарансульфат | 1–3 | поверхность клетки | корцептор сигнальных белков Wingless и Decapentaplegic |

кольцевой структуры, стабилизирует спиральную конформацию каждой α -цепи, а глицин, простейшая аминокислота (боковая цепь состоит всего лишь из одного атома водорода), является каждым третьим остатком в центральном участке α -цепи, что позволяет трем спирализованным α -цепям плотно прилегать друг к другу с образованием законченной коллагеновой суперспирали.

Геном человека содержит 42 различных гена, кодирующих различные коллагеновые α -цепи. Эти гены, в зависимости от ткани, экспрессируются в различных комбинациях. Хотя из 42 α -цепей можно, в принципе, построить тысячи различных трехцепочечных коллагенов, в действительности разрешено лишь ограниченное количество комбинаций, и на данный момент известно менее 40 типов коллагена. Коллаген I типа особенно широко распространен и является основным коллагеном кожи и костной ткани. Он принадлежит к классу **фибрилярных**, или **фибриллообразующих, коллагенов**, имеющих длинную структуру, напоминающую канат, непрерывную либо прерывающуюся в нескольких местах. Во внеклеточном пространстве эти молекулы коллагена формируют полимеры высшего порядка — *коллагеновые фибриллы*, представляющие собой тонкие структуры (10–300 нм в диаметре), длина которых в зрелых тканях достигает многих сотен микрометров. Эти структуры хорошо видны на электронных микрофотографиях (**рис. 19.63**; см. также рис. 19.61).

Рис. 19.62. Схема строения типичной молекулы коллагена.

а) Модель фрагмента отдельной α-цепи коллагена, в которой каждый аминокислотный остаток представлен сферой. Цепь включает в себя около 1 000 аминокислотных звеньев. По структуре она представляет собой левую спираль, у которой на один виток приходится три остатка, причем каждый третий остаток — глицин. Стало быть, α-цепь состоит из повторяющихся троек Гли-Х-У, где на месте Х и У может стоять любой аминокислотный остаток (очень часто на месте Х находится пролин, а на месте У — гидроксипролин). б) Модель фрагмента молекулы коллагена, в которой три α-цепи, показанные разными цветами, закручиваются друг вокруг друга, образуя тройную спираль. Единственной аминокислотой, достаточно маленькой, чтобы поместиться в тесном пространстве внутри сверхспирали, является глицин. Вся молекула представляет собой стержень длиной 300 нм. (По модели В. L. Trus.)



Коллагеновые фибриллы часто агрегируют с образованием еще больших пучков, похожих на трос, диаметром несколько микрометров, видимых в световой микроскоп как *коллагеновые волокна*.

Коллагены IX и XII типов называются *коллагенами, ассоциированными с фибриллами*, поскольку находятся на поверхности коллагеновых фибрилл. Считается, что они связывают фибриллы друг с другом и с другими компонентами внеклеточного матрикса. Коллаген IV типа, как мы знаем, способен к образованию сетей и формирует основную часть базальных мембран, а молекулы коллагена VII типа образуют димеры, которые, собираясь вместе, составляют специализированные

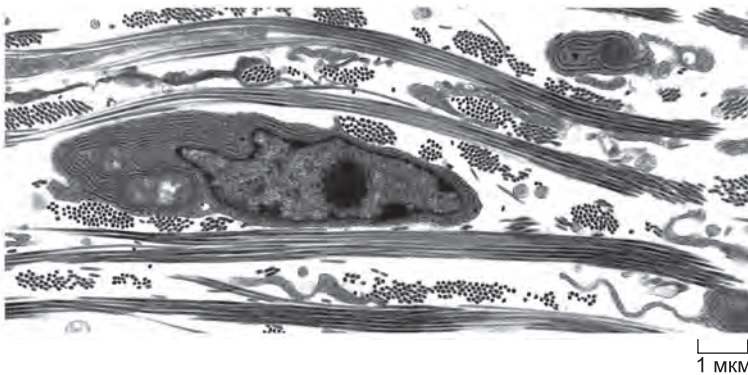


Рис. 19.63. Фибробласт, окруженный коллагеновыми фибриллами на срезе соединительной ткани куриного зародыша. На этой электронной микрофотографии фибриллы образуют примерно перпендикулярные друг другу пучки. Поэтому некоторые из них ориентированы в плоскости среза, а другие показаны в разрезе. Коллагеновые фибриллы формируются фибробластами, у которых есть хорошо выраженный эндоплазматический ретикулум, где и синтезируется коллаген. (Из С. Ploetz, E. I. Zysband and D. E. Birk, *J. Struct. Biol.* 106: 73–81, 1991. С разрешения издательства Elsevier.)

структуры — якорные фибриллы. Якорные фибриллы прикрепляют базальную мембрану многослойного эпителия к лежащей под ним соединительной ткани и поэтому часто встречаются в коже.

Кроме того, известно несколько коллагеноподобных белков, в том числе коллаген XVII типа, имеющий трансмембранный домен и обнаруженный в полудесмосомах, и коллаген XVIII типа, который, как мы уже упоминали, является коровым белком протеогликанов в базальных мембранах.

Похоже, что гены многих белков возникли в процессе эволюции в результате неоднократной дупликации начального фрагмента ДНК, поэтому в таких белках встречаются повторяющиеся последовательности аминокислот. Гены, кодирующие α -цепи большинства фибриллярных коллагенов, — хороший пример: они очень длинные (до 44 тысяч п. н.) и содержат около 50 экзонов. Большинство экзонов содержит либо 54, либо кратное 54 число нуклеотидов, свидетельствуя о том, что эти коллагены возникли в результате многократных удвоений начального гена, содержащего 54 нуклеотида и кодирующего ровно шесть повторов последовательности Gly-X-Y (см. рис. 19.62).

В [таблице 19.7](#) дана дополнительная информация о некоторых коллагенах, упоминаемых в этой главе.

Таблица 19.7. Некоторые типы коллагена и их свойства

| | ТИП | ПОЛИМЕРНАЯ ФОРМА | ТКАНЬ | ФЕНОТИП МУТАНТОВ |
|---|-------|--|--|---|
| Фибрилло-образующие | I | фибрилла | кость, кожа, сухожилия, связки, роговица, внутренние органы (составляет 90% всего коллагена в организме) | тяжелые нарушения костей, ломкость |
| | II | фибрилла | хрящ, диски беспозвоночных, хорда, стекловидное тело глаза | недостаток хряща, карликовость |
| | III | фибрилла | кожа, кровеносные сосуды, внутренние органы | хрупкая кожа, болтающиеся суставы, частые разрывы сосудов |
| | V | фибрилла (в комплексе с I) | так же, как I | хрупкая кожа, болтающиеся суставы, частые разрывы сосудов |
| | XI | фибрилла (в комплексе с II) | так же, как II | близорукость, слепота |
| Связанные с фибриллами | IX | связь с поверхностью фибрилл коллагена II типа | хрящ | остеоартрит |
| Образующие сеть | IV | сеть наподобие тканой материи | базальная мембрана | болезнь почек (гломерулонефрит), глухота |
| | VII | якорные фибриллы | подстилка многослойного плоского эпителия | волдыри на коже |
| Трансмембранные Коровые белки протеогликанов | XVII | нефибриллярные | полудесмосомы | волдыри на коже |
| | XVIII | нефибриллярные | базальная мембрана | близорукость, отслойка сетчатки, гидроцефалия |

19.6.8. Коллагеновые цепочки претерпевают ряд посттрансляционных модификаций

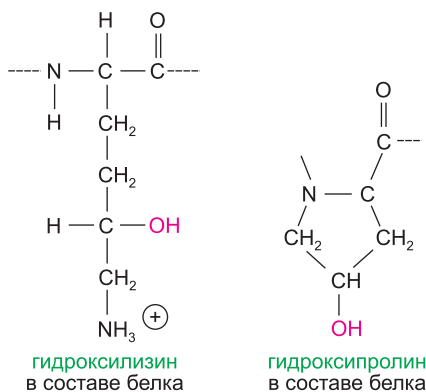
Отдельные полипептидные цепочки коллагена синтезируются на рибосомах, связанных с мембраной, и оказываются в полости эндоплазматического ретикулула (ЭПР) в виде более длинных предшественников, называемых *про-α-цепями*. Эти предшественники не только имеют короткий N-концевой сигнальный пептид, необходимый для того, чтобы синтезируемый пептид проник в ЭПР, но также содержат на обоих концах дополнительные аминокислотные остатки, называемые *пропептидами*, которые отщепляются на последующих стадиях сборки коллагена. Кроме того, в полости ЭПР некоторые остатки пролина и лизина гидроксилируются, превращаясь соответственно в гидроксипролин и гидроксилизин, а некоторые из гидроксилизинов гликозилируются. Затем каждая про-α-цепь соединяется с двумя другими и формирует трехцепочечную молекулу *проколлагена*, сшитую воедино водородными связями.

Гидроксилизины и гидроксипролины (рис. 19.64) в других животных белках встречаются редко, хотя некоторые белки клеточной стенки растений содержат достаточно много остатков гидроксипролина. Считается, что в коллагене гидроксильные группы этих аминокислотных остатков формируют межцепочечные водородные связи, помогающие стабилизировать тройную спираль. Условия, когда гидроксилирование пролина невозможно, например, при недостатке аскорбиновой кислоты (витамина С), чреваты серьезными нарушениями. В XIX веке многие мореплаватели заболели *цингой* — болезнью, зачастую смертельной, которая вызывается недостатком витамина С в пище. При этой болезни синтезируются дефектные про-α-цепи, не способные сформировать устойчивую тройную спираль, которые немедленно деградируют еще внутри клетки, поэтому у таких больных синтез новых молекул коллагена подавлен. В здоровых тканях постоянно происходит распад старого и синтез нового коллагена (время оборота составляет месяцы или годы в зависимости от ткани). У больных цингой замена старого коллагена невозможна, а существовавший ранее нормальный коллаген постепенно распадается, и через несколько месяцев стенки кровеносных сосудов становятся хрупкими, зубы расшатываются, а раны перестают заживать.

19.6.9. Пропептиды отщепляются от проколлагена после его секреции, позволяя формироваться фибриллам

После секреции пропептиды фибриллярных молекул проколлагена удаляются с помощью специальных внеклеточных протеолитических ферментов. При этом молекулы проколлагена превращаются в молекулы коллагена, объединяющиеся во внеклеточном про-

Рис. 19.64. Гидроксилизин и гидроксипролин. Эти модифицированные аминокислоты часто встречаются в коллагене. Модификация осуществляется специальными ферментами уже после включения лизина и пролина в молекулу проколлагена.



пространстве в **коллагеновые фибриллы**. Пропептиды выполняют по меньшей мере две функции. Во-первых, они управляют формированием трехцепочечных молекул коллагена внутри клетки. Во-вторых, сохраняясь вплоть до завершения секреции, они предотвращают образование внутри клетки больших коллагеновых фибрилл, которое имело бы катастрофические последствия.

Процесс образования фибрилл обусловлен способностью к спонтанному объединению молекул коллагена, которые растворяются более чем в тысячу раз хуже, чем молекулы проколлагена. Фибриллы начинают формироваться вблизи от поверхности клетки, часто в глубоких складках плазматической мембраны, получившихся при слиянии с нею секреторных пузырьков. Цитоскелет периферического слоя клетки может оказывать влияние на место и скорость формирования, а также на ориентацию фибрилл.

В электронном микроскопе фибриллы коллагена выглядят поперечно исчерченными с периодом 67 нм. Такая картина отражает особенности упаковки отдельных молекул в фибриллу. После того как формирование фибрилл во внеклеточном пространстве завершится, их прочность значительно увеличивается за счет ковалентных поперечных сшивок между остатками лизина составляющих фибриллу молекул (**рис. 19.65**). Ковалентные связи такого типа обнаружены только в коллагене и эластине. При ингибировании образования поперечных сшивок предел прочности на разрыв фибриллы резко уменьшается: ткани, содержащие коллаген, становятся хрупкими, а такие структуры, как кожа, сухожилия и кровеносные сосуды, легко повреждаются. Количество и тип поперечных сшивок от ткани к ткани изменяются. Например, особенно много поперечных сшивок в коллагене ахиллова сухожилия, так как здесь предел прочности на разрыв имеет принципиальное значение.

На **рис. 19.66** представлена последовательность событий при синтезе коллагена и сборке фибрилл. Учитывая, что в этом участвуют многочисленные ферментативные реакции, неудивительно, что многие генетические болезни человека связаны с нарушениями формирования фибрилл. Мутации, затрагивающие коллаген I типа, вызывают несовершенный остеогенез (*osteogenesis imperfecta*), характеризующийся ломкостью костей. Мутации, связанные с нарушением выработки коллагена II типа, вызывают *хондродисплазии*, при которых образуется аномальный хрящ, что приводит к дефектам костей и суставов. Наконец, мутации, затрагивающие коллаген III типа, являются причиной *синдрома Элерса – Данлоса*, для которого характерна непрочность кожи и стенок кровеносных сосудов, а также гипермобильность суставов.

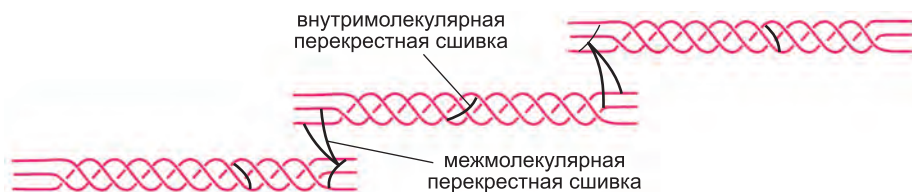


Рис. 19.65. Перекрестные сшивки внутри коллагеновой фибриллы, образуемые между боковыми цепями модифицированного лизина. Ковалентные внутри- и межмолекулярные перекрестные сшивки формируются в несколько этапов. Сначала внеклеточный фермент лизил-оксидаза дезаминирует некоторые лизиновые и гидроксизиновые остатки, в результате чего образуются высоко реакционноспособные альдегидные группы. Затем альдегиды спонтанно образуют ковалентные связи друг с другом и с другими лизинами или гидроксизинами. Большая часть перекрестных сшивок образуется между короткими неспиральными сегментами на каждом конце коллагеновых молекул.

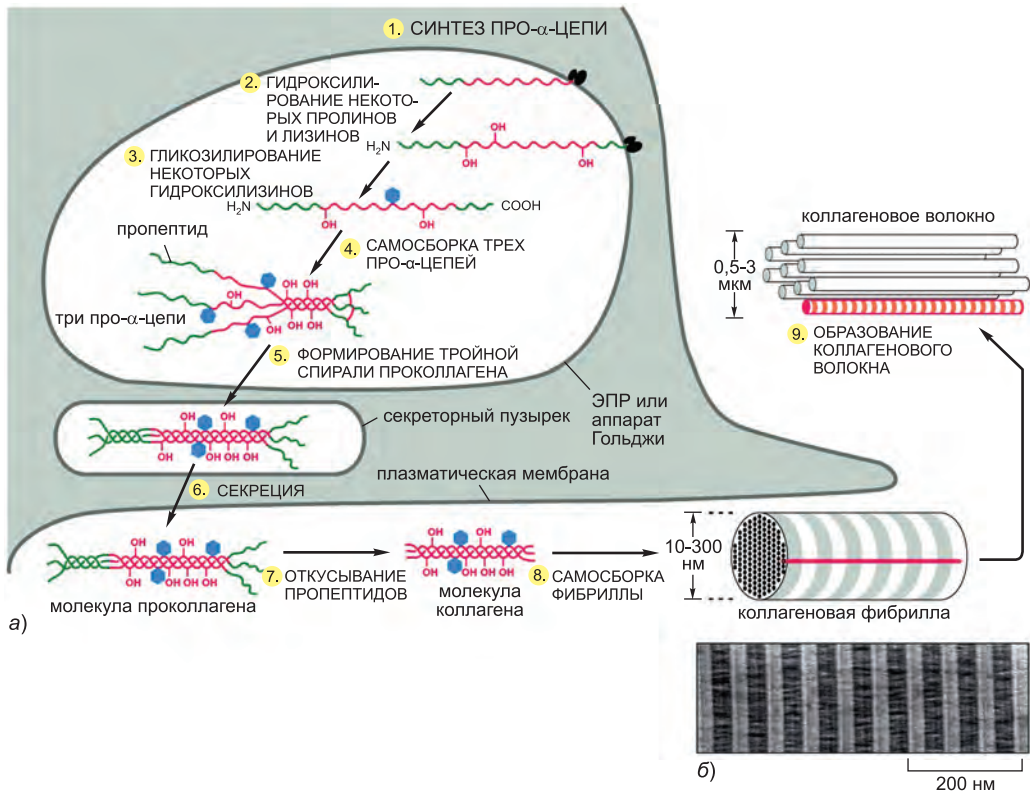


Рис. 19.66. Внутри- и внеклеточные этапы формирования коллагеновой фибриллы. а) Обратите внимание, что сборка коллагеновых фибрилл из проколлагена происходит вне клетки, часто в складках плазматической мембраны (не показано). Далее фибриллы могут образовывать во внеклеточном пространстве упорядоченные комплексы, например большие коллагеновые волокна, различимые в световой микроскоп. Ковалентные перекрестные шивки, стабилизирующие подобные комплексы, на картинке не представлены. б) На этой электронной микрофотографии негативно окрашенных коллагеновых фибрилл хорошо видна типичная для них исчерченность. (Микрофотография любезно предоставлена Robert Horne.)

19.6.10. Внеклеточные коллагены, ассоциированные с фибриллами, способствуют их сборке

В отличие от гликозаминогликанов, которые противостоят силам сжатия, фибриллы коллагена формируют структуры, оказывающие механическое сопротивление растягивающим силам. В разных тканях фибриллы образуются по-разному и имеют неодинаковый диаметр. Например, в коже млекопитающих они расположены наподобие прутьев в плетеных изделиях и поэтому сопротивляются нагрузкам по всем направлениям; из этого материала, предварительно обработанного, изготовлены кожаные изделия. В сухожилиях они собраны в параллельные пучки, уложенные вдоль главной оси напряжения, а в зрелой костной ткани и роговице их расположение напоминает чередующиеся слои в фанере — фибриллы каждого слоя уложены параллельно друг другу почти под прямым углом к фибриллам соседних слоев. Так же организованы они и в коже головастика (рис. 19.67).

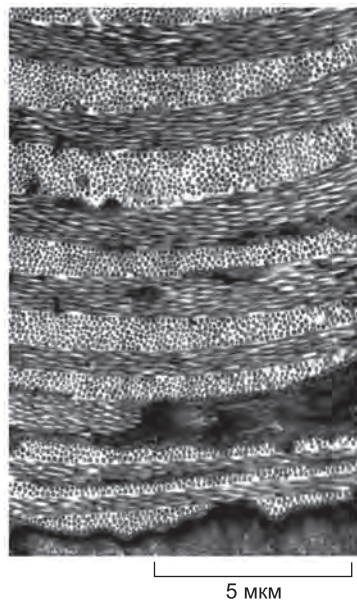


Рис. 19.67. Коллагеновые фибриллы в коже головостика. На этой электронной микрофотографии видно, что фибриллы закладываются подобно слоям фанеры: фибриллы соседних слоев ориентированы перпендикулярно. Так же организованы фибриллы в зрелой костной ткани и роговице глаза. (Предоставлено Jerome Gross.)

Сами клетки соединительной ткани определяют размер и расположение коллагеновых фибрилл. В клетках могут экспрессироваться один или несколько генов для разных типов молекул фибриллярного проколлагена. Однако одни и те же молекулы коллагена могут по-разному располагаться в фибриллах различных тканей. Как такое оказывается возможным? Ответ отчасти заключается в том, что клетки могут регулировать взаимное расположение молекул при сборке фибрилл во внеклеточном пространстве вблизи плазматической мембраны (рис. 19.66). Кроме того, клетки могут влиять на этот процесс, вырабатывая, наряду с фибриллярными коллагенами, другие макромолекулы матрикса.

В частности, секреция фибриллярного белка фибронектина (см. далее) предшествует образованию коллагеновых фибрилл и принимает участие в их сборке.

Считается, что **коллагены, ассоциированные с фибриллами**, например коллагены IX и XII типов, в этом отношении особенно важны. У них есть несколько отличий от фибриллярных коллагенов.

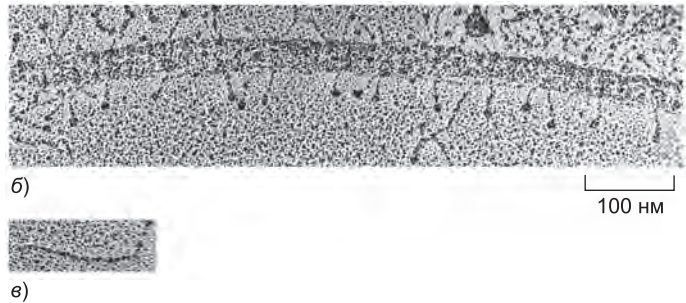
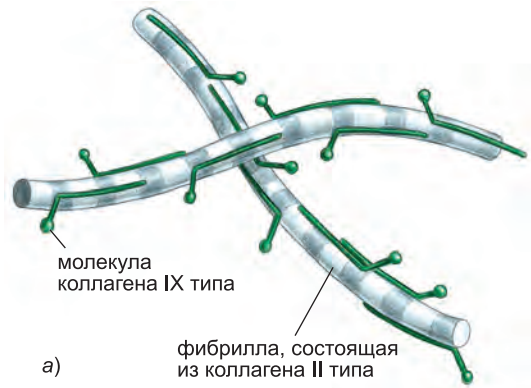
1. Их трехцепочечная спиральная структура прерывается одним или двумя короткими неспиральными доменами, что придает им дополнительную гибкость.
2. Они не нарезаются после секреции и поэтому сохраняют свои пропептиды.
3. Они не агрегируют с образованием фибрилл во внеклеточном пространстве, зато связываются через равные промежутки с поверхностью коллагеновых фибрилл. Молекулы коллагена IX типа связываются с фибриллами, содержащими коллаген II типа в хрящах, а также в роговице и стекловидном теле глаза (рис. 19.68), а молекулы коллагена XII типа связываются с фибриллами, содержащими коллаген I типа в сухожилиях и многих других тканях.

Считается, что коллагены, ассоциированные с фибриллами, участвуют во взаимодействии коллагеновых фибрилл друг с другом и с другими макромолекулами матрикса, помогая выбрать способ организации фибрилл в матриксе.

19.6.11. Клетки участвуют в организации секретируемых ими коллагеновых фибрилл, изменяя натяжение матрикса

Клетки взаимодействуют с матриксом как химически, так и механически, причем, как свидетельствуют исследования на культурах клеток, подобное механическое взаимодействие может играть огромную роль в устройстве соединительной ткани. Так, если поместить фибробласты в чашку Петри с ячеистым гелем, образованным случайно ориентированными коллагеновыми фибриллами, фибробласты натягивают эту сеть, заставляя гель сильно уменьшаться в объеме. Сходным образом группа

Рис. 19.68. Коллаген IX типа. а) Молекулы коллагена IX типа, образующие периодическую структуру на поверхности фибрилл, содержащих коллаген II типа. б) Электронная микрофотография фибриллы, содержащей коллаген II типа, покрытой молекулами коллагена IX типа. Использован метод кругового напыления. в) Отдельная молекула коллагена IX типа. (б и в — из L. Vaughan et al., *J. Cell Biol.* 106: 991–997, 1988. С разрешения издательства The Rockefeller University Press.)

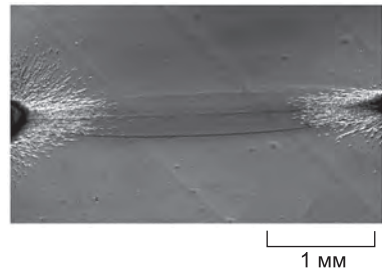


фибробластов окружает себя капсулой из плотно упакованных коллагеновых волокон, ориентированных тангенциально.

Если два фрагмента эмбриональной ткани положить на коллагеновый гель на удалении друг от друга, то находящийся между ними коллаген преобразуется в плотный поясок ориентированных волокон, соединяющий эксплантаты (**рис. 19.69**). Затем фибробласты мигрируют из эксплантатов по коллагеновым волокнам. Таким образом, фибробласты влияют на ориентацию коллагеновых волокон, а волокна, в свою очередь, влияют на распределение фибробластов.

Возможно, что подобную роль фибробласты играют и в организации внеклеточного матрикса в организме. Сначала они синтезируют коллагеновые фибриллы и правильным образом их ориентируют, а затем поправляют сформированный ими матрикс, продвигаясь по нему и натягивая его. Это способствует образованию сухожилий, связок и плотных слоев соединительной ткани, подстилающих и соединяющих друг с другом большинство органов.

Рис. 19.69. Механическое воздействие клеток на матрикс. На этой микрофотографии показан участок между двумя фрагментами сердца куриного зародыша (в этой ткани столь же много фибробластов, сколь и сердечно-мышечных клеток). Эти фрагменты культивировались в течение 4 дней на подложке из коллагенового геля. Между эксплантатами образовалась плотная полоска геля, вероятно, из-за того, что фибробласты натягивают коллаген. (Из D. Stopak and A.K. Harris, *Dev. Biol.* 90: 383–398, 1982. С разрешения издательства Academic Press.)



19.6.12. Эластин придает тканям упругость

Многие ткани позвоночных, например кожа, кровеносные сосуды и ткань легких, должны быть не только прочными, но и эластичными. Обширная сеть **эластических волокон** внеклеточного матрикса придает этим тканям необходимую им способность сжиматься после временного растяжения (**рис. 19.70**). Эластические волокна могут растягиваться по крайней мере в пять раз сильнее, чем резиновая лента такого же поперечного сечения. Вплетенные в сеть эластических волокон длинные нерастяжимые коллагеновые фибриллы ограничивают растяжимость всей сети и тем самым предотвращают разрыв ткани.

Основным компонентом эластических волокон является **эластин** — весьма гидрофобный белок (длиной порядка 750 аминокислотных остатков), который, подобно коллагену, необычайно богат пролином и глицином, но, в отличие от коллагена, не гликозилирован, содержит небольшое количество гидроксипролина и совсем не содержит гидроксизина. Растворимый *тропоэластин* (предшественник эластина в биосинтезе) секретируется во внеклеточное пространство и собирается в эластические волокна вблизи плазматической мембраны, в основном в складках клеточной поверхности. После секреции молекулы тропоэластина образуют множество поперечных сшивок друг с другом, создавая обширную сеть эластиновых волокон и слоев. Сшивки образуются между остатками лизина с помощью того же механизма, что и в коллагене.

Белковая последовательность эластина состоит в основном из чередующихся коротких сегментов двух типов: гидрофобные сегменты, придающие молекуле упругость, и богатые аланином и лизином α -спиральные сегменты, участвующие в образовании поперечных сшивок между соседними молекулами. Каждый сегмент кодируется своим отдельным экзоном. До сих пор не совсем ясно, какую конформацию принимают молекулы эластина в эластическом волокне и как структура волокна соотносится с ее упругими свойствами. Предполагают, что часть полипептидной цепи эластина, подобно полимерной цепочке каучука, принимает свободную конформацию «случайного клубка» и что именно это обстоятельство позволяет

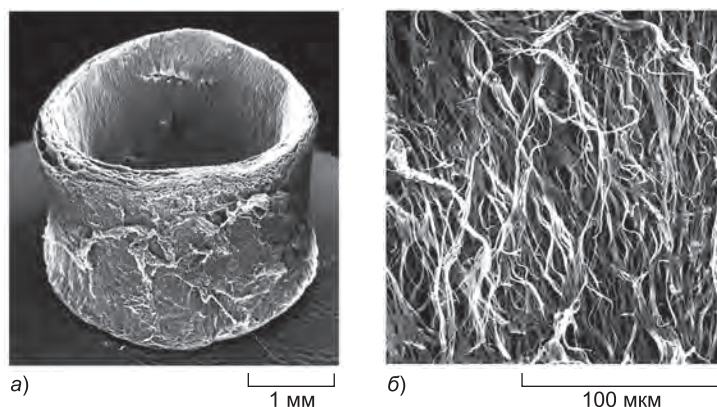


Рис. 19.70. Эластические волокна. Здесь представлены микрофотографии, полученные при помощи сканирующего электронного микроскопа: (а) фрагмент аорты собаки при малом увеличении и (б) плотная сеть продольно ориентированных эластических волокон во внешнем слое того же кровеносного сосуда, различимая при большом увеличении. Все остальные компоненты удалены воздействием ферментов и муравьиной кислоты. (Из K. S. Haas et al., *Anat. Rec.* 230: 86–96, 1991. С разрешения издательства Wiley-Liss.)

молекулам, сшитым в единую эластическую сеть, растягиваться и возвращаться в исходное состояние подобно резиновой ленте (рис. 19.71).

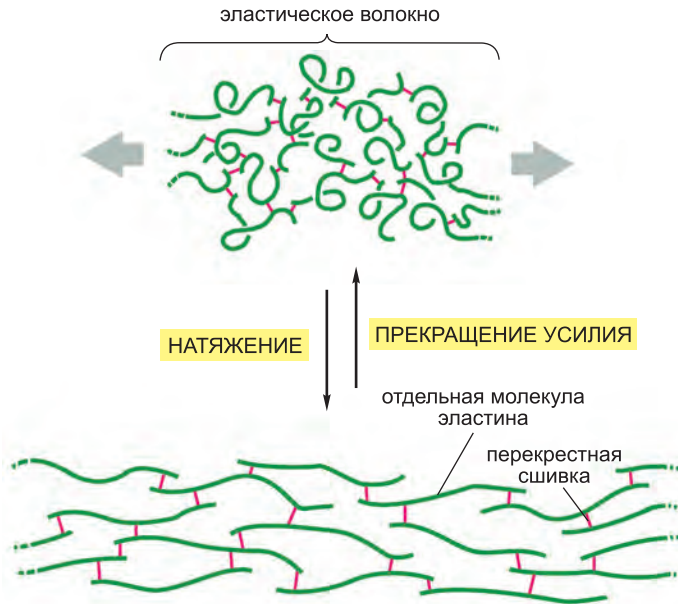


Рис. 19.71. Модель, объясняющая упругие свойства эластического волокна. Молекулы связаны друг с другом ковалентными связями (показаны красным), образуя перекрестно-сшитую сеть. В этой модели каждая молекула эластина в сети может растягиваться в длину и сокращаться, принимая конформацию случайного клубка. Поэтому вся сеть способна растягиваться и возвращаться в исходное состояние подобно резиновой ленте.

Эластин — преобладающий элемент внеклеточного матрикса стенок артерий; он составляет 50% сухой массы самой большой артерии — аорты. Мутации в гене эластина, вызывающие дефицит этого белка у мышей или человека, приводят к уменьшению просвета аорты и других артерий и избыточному делению гладких мышечных клеток артериальной стенки. По-видимому, нормальная эластичность артерии необходима для сдерживания пролиферации этих клеток.

Эластические волокна состоят не только из эластина. Эластиновая сердцевина окружена чехлом из *микрофибрилл*, каждая из которых имеет диаметр около 10 нм. В развивающейся ткани микрофибриллы возникают раньше и, судя по всему, служат остовом для наращивания на нем эластина. Структуры из микрофибрилл сами по себе эластичны и в некоторых случаях функционируют без эластина, например, они помогают удерживать хрусталик на его месте внутри глаза. В состав микрофибрилл входят несколько различных гликопротеинов, включая *фибриллин*, — большой и очень важный для поддержания целостности эластического волокна гликопротеин, связывающийся с эластином. Мутации в гене фибриллина приводят к *синдрому Марфана*, довольно распространенному генетическому заболеванию человека. В самых тяжелых случаях есть риск разрыва аорты; другие часто встречающиеся симптомы включают в себя смещение хрусталика и нарушения скелета и суставов. Больные этим заболеванием часто необычайно долговязы; не исключено, что от этой болезни страдал Авраам Линкольн.

19.6.13. Фибронектин — внеклеточный белок, способствующий прикреплению клеток к матриксу

В состав внеклеточного матрикса входят несколько белков-неколлагенов, имеющих, как правило, мультидоменную структуру, причем каждый домен содержит специфический сайт связывания с другими макромолекулами матрикса и с рецепторами на поверхности клеток. Следовательно, эти белки способствуют как организации матрикса, так и прикреплению к нему клеток. Кроме того, подобно протеогликанам, они направляют движение клеток в развивающихся тканях, формируя пути, вдоль которых могут мигрировать клетки, либо, наоборот, служа преградой на пути клеток в запрещенные области.

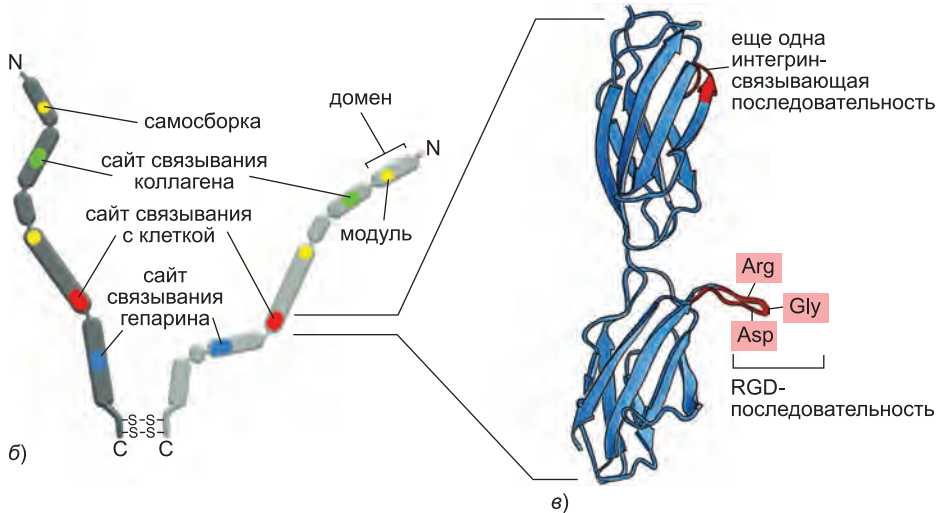
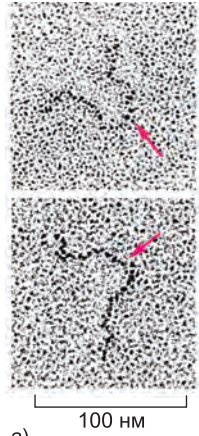
Первым из этого класса белков охарактеризован **фибронектин**, большой гликопротеин, свойственный всем позвоночным и играющий большую роль во взаимодействиях клетки и матрикса. Так, например, мутантные мыши, неспособные к выработке фибронектина, погибают на ранних стадиях эмбриогенеза, поскольку их эндотелиальные клетки не могут сформировать нормальные кровеносные сосуды. Считается, что этот дефект вызван нарушением взаимодействия эндотелиальных клеток с окружающим их внеклеточным матриксом, который в норме содержит фибронектин.

Фибронектин представляет собой димер, состоящий из двух очень больших субъединиц, соединенных с одного конца дисульфидными связями. Каждая субъединица образует ряд функционально разных доменов, отделенных друг от друга гибкой полипептидной цепочкой (**рис. 19.72**). Домены, в свою очередь, состоят из меньших модулей, каждый из которых периодически повторяется и обычно кодируется отдельным экзоном. Это говорит о том, что, возможно, ген фибронектина, так же как гены коллагенов, возник в результате удвоения экзонов. В геноме человека есть один ген фибронектина, содержащий около 50 экзонов сходного размера, однако сплайсинг транскриптов может происходить по-разному, приводя к образованию различных изоформ фибронектина. В основном модуле, который называется **фибронектиновым доменом III типа**, находятся сайты связывания с интегринами и, следовательно, с поверхностью клеток. Этот домен длиной около 90 аминокислот повторяется в каждой субъединице по меньшей мере 15 раз. Фибронектиновый домен III типа — один из наиболее распространенных белковых доменов у позвоночных.

19.6.14. Натяжение, создаваемое клетками, регулирует сборку фибрилл фибронектина

Фибронектин может существовать как в растворимой форме, циркулируя в крови и других жидкостях тела, так и в виде нерастворимых *фибрилл фибронектина*, в которых фибронектиновые димеры сшиты друг с другом с помощью дополнительных дисульфидных связей и входят в состав внеклеточного матрикса. Однако, в отличие от молекул фибриллярного коллагена, которые могут собираться в фибриллы в пробирке, молекулы фибронектина образуют фибриллы исключительно на поверхности клеток и только там, где есть соответствующие фибронектин-связывающие белки, в частности интегрины. Интегрины связывают фибронектин, находящийся во внеклеточном пространстве, с внутренним актиновым цитоскелетом клетки. Такая связь передает натяжение молекулам фибронектина (предполагается, что эти молекулы прикреплены к какой-то другой структуре) и растягивает их, в результате чего экспонируются наружу их маскированные (скрытые) сайты связывания (**рис. 19.73**). Это позволяет им связываться друг с другом напрямую

Рис. 19.72. Структура димера фибронектина. а) Электронные микрофотографии отдельных димеров фибронектина при напылении платиной; красными стрелками отмечены С-концы. б) Две полипептидные цепочки сходны друг с другом, но, как правило, не идентичны (их кодирует один и тот же ген, однако сплайсинг мРНК проходит по-разному). Они связаны двумя дисульфидными мостиками вблизи С-конца. Каждая цепь состоит почти из 2500 аминокислотных остатков и образует пять или шесть свернутых доменов, соединенных гибкими полипептидными сегментами. Домены содержат сайты связывания определенных молекул или клеток, что приведено на рисунке для пяти доменов. Для простоты показаны не все известные сайты связывания (например, имеются и другие сайты связывания клеток). в) Трехмерная структура двух разных фибронектиновых повторов III типа, определенная кристаллографическим методом. Повтор III типа является основной повторяющейся единицей в фибронектине. RGD-последовательность (Arg-Gly-Asp) и еще одна интегрин-связывающая последовательность, выделенные красным, входят в состав основного сайта связывания клеток и очень важны при установлении связи с клеткой. (а — из J. Engel et al., *J. Mol. Biol.* 150: 97–120, 1981. С разрешения издательства Academic Press; в — из Daniel J. Leahy, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 13: 363–393, 1997. С разрешения Annual Reviews.)



и с другими молекулами фибронектина, формируя фибриллу (рис. 19.74). Эта зависимость от натяжения и необходимость взаимодействия с поверхностью клеток позволяет фибриллам образоваться именно там, где они нужны, и не допускает их сборку в неподходящих местах, например в кровеносном русле.

Множественные повторы, подобные домену фибронектина III, встречаются во многих других белках внеклеточного матрикса, и возможно, что натяжение, приложенное к этим белкам, также выводит наружу маскированные сайты связывания и тем самым влияет на их полимеризацию.

19.6.15. Фибронектины связываются с интегринами с помощью RGD-последовательности

Один из способов анализа сложного многофункционального белка, каковым является фибронектин, заключается в его расщеплении на фрагменты и определении функции каждого такого домена по отдельности. Если воздействовать на фибро-



Рис. 19.73. Разворачивание фибронектинового домена типа III при растяжении. В результате растягивания молекулы фибронектина становятся доступными скрытые сайты связывания. Это позволяет вытянутым молекулам образовывать филаменты, см. рис. 19.74. (Из V. Vogel and M. Sheetz, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 7: 265–275, 2006. С разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

нектин протеолитическими ферментами в низкой концентрации, то полипептидная цепь разрезается по линкерным участкам между доменами, оставляя сами домены нетронутыми. После этого можно показать, что один из доменов связывается с коллагеном, другой с гепарином, третий — со специальными рецепторами на поверхности клетки, и так далее (см. рис. 19.72, б). С помощью синтетических пептидов, соответствующих различным сегментам доменов связывания с клеткой, идентифицировали специфическую последовательность из трех аминокислот (*Arg-Gly-Asp*, или *RGD*), которая встречается в одном из доменов III (см. рис. 19.72, в). Эта последовательность — важнейший компонент сайта связывания с клеткой. Даже очень короткие пептиды, в состав которых входит эта **RGD-последовательность**, способны конкурировать с фибронектином за сайты связывания на поверхности клеток, ингибируя тем самым прикрепление клеток к фибронектиновому матриксу. Закрепленные на твердой подложке пептиды могут фиксировать на ней клетки.

Помимо фибронектина, *RGD*-последовательность содержат еще несколько внеклеточных белков, участвующих в связывании клеток с субстратом. Некоторые из них принимают участие в свертывании крови; пептиды, содержащие *RGD*-последовательность, пригодились при создании веществ, препятствующих

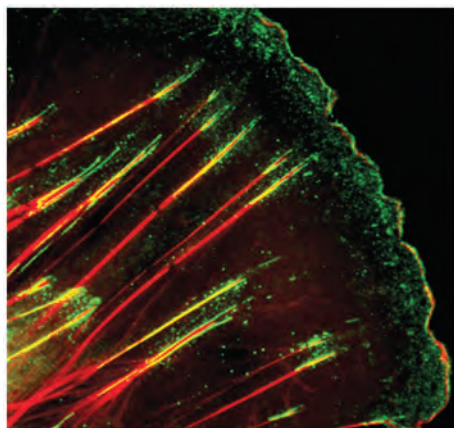


Рис. 19.74. Образование фибронектиновых фибрилл на поверхности клетки. На рисунке представлен передний край мигрирующего фибробласта мыши. Внеклеточный белок адгезии фибронектин окрашен зеленым, а внутриклеточные актиновые филаменты — красным. Сначала фибронектин представлен в виде небольших точечных гранул вблизи переднего конца клеток. Затем он скапливается в области фокальных контактов (точек прикрепления актиновых филаментов) и образует фибриллы, параллельные актиновым филаментам. Фибронектин связан с актиновыми филаментами с помощью интегринов, пронизывающих клеточную мембрану. Считают, что благодаря этой связи молекулы фибронектина испытывают натяжение и разворачиваются. В результате этого открываются скрытые сайты связывания, что способствует образованию фибрилл. (С любезного разрешения Roumen Pankov and Kenneth Yamada.)

свертыванию крови. Аналогичным приемом пользуются некоторые змеи: в состав их яда входят RGD-содержащие белки *дезинтегрины*, препятствующие свертыванию крови и остановке кровотечения у жертвы.

Рецепторы RGD-содержащих белков на поверхности клетки принадлежат к семейству интегринов. Однако каждый интегрин специфически распознает свой небольшой набор молекул матрикса. Это говорит о том, что для прочного связывания недостаточно одной лишь RGD-последовательности. Кроме того, RGD-последовательность — не единственная последовательность, которую могут распознавать и связывать интегрины.

19.6.16. Клеткам приходится не только вырабатывать матрикс, но и разрушать его

Способность клеток разрушать внеклеточный матрикс столь же важна, сколь и умение его синтезировать и связываться с ним. Например, при регенерации ткани необходимо быстро демонтировать матрикс; макромолекулы внеклеточного матрикса у взрослых животных на вид не претерпевающего никаких изменений, постоянно расщепляются и синтезируются вновь. Благодаря этому кость, к примеру, может перестроиться так, чтобы эффективнее сопротивляться прилагаемой нагрузке (см. главу 23).

Если рассматривать отдельно взятую клетку, то способность разрушать матрикс вокруг себя важна для нее по двум причинам: это дает ей возможность делиться, будучи окруженной матриксом, и позволяет ей перемещаться. Как мы уже упоминали, клетки соединительной ткани, чтобы делиться, должны уметь растягиваться. Если в клетке отсутствуют ферменты, разрушающие окружающий матрикс, либо если матрикс оказывается устойчив к их воздействию, она остается запертой и не способна принять вытянутую форму, так как окружающий ее матрикс непроницаем; в результате клетка вряд ли сможет поделиться, а ее перемещение крайне затруднено.

Локализованное расщепление компонентов матрикса также необходимо при пересечении базальной мембраны. Это происходит в норме при ветвлении эпителиальных структур, например желез, и позволяет разрастаться популяции эпителиальных клеток. Сюда же относится миграция лейкоцитов через базальную мембрану кровеносного сосуда в ткань при заражении или травме. Есть и не такие безобидные примеры: деградация матрикса также играет большую роль в распространении раковых клеток по организму и в способности раковых клеток к пролиферации в тканях, в которые они внедрились (см. главу 20).

19.6.17. Деградация матрикса происходит вблизи клеток

Как правило, компоненты матрикса расщепляются внеклеточными протеолитическими ферментами (протеазами), которые действуют вблизи вырабатывающих их клеток. Так, антитела к продуктам протеолитического расщепления окрашивают матрикс лишь в непосредственной близости от клеток. Многие из этих протеаз принадлежат к одному из двух больших классов. Большинство из них являются **металлопротеазами матрикса**, и для их активности необходимы связанные Ca^{2+} и Zn^{2+} ; другие представляют собой сериновые протеазы, у которых в активном центре имеется высоко реакционно-способный остаток серина. Металлопротеазы и сериновые протеазы совместно расщепляют коллаген, ламинин и фибронектин. Некоторые металлопротеазы, например *коллагеназы*, высокоспецифичны и расщепляют лишь определенные белки в небольшом количестве сайтов протеолиза. Таким образом, структурная целостность матрикса сохраняется, а степень протеолиза достаточна для миграции клеток. Другие

металлопротеазы менее специфичны, однако они заякорены на плазматической мембране, поэтому действуют лишь там, где это нужно; металлопротеазы именно этого типа обеспечивают способность к делению у клеток, окруженных матриксом.

Очевидно, что активность протеаз, расщепляющих компоненты матрикса, должна строго контролироваться, иначе организм превратится в бесформенную груду материала. В этом участвуют три основных механизма.

Локальная активация. Многие протеазы вырабатываются в виде неактивных предшественников, способных локально активироваться там, где нужно. В качестве примера можно привести *плазминоген*, неактивный предшественник протеазы, в большом количестве содержащийся в крови. Специальные протеазы — *активаторы плазминогена* — разрезают плазминоген, в результате чего получается активная сериновая протеаза плазмин, которая участвует в тромболлизе. Тканевой активатор плазминогена (*tissue-type plasminogen activator, tPA*) часто вводят пациентам сразу после сердечного приступа или тромботического инсульта; он способствует рассасыванию артериального тромба, вызвавшего приступ, восстанавливая приток крови к ткани.

Захват поверхностными рецепторами. У многих клеток на поверхности есть рецепторы, связывающие протеазы там, где они необходимы. *Урокиназный активатор плазминогена (urokinase-type plasminogen activator, uPA)* связывается с рецепторами на растущих концах аксона и на ведущем крае некоторых мигрирующих клеток и, возможно, помогает им «расчищать путь». Возможно также, что связанный с рецептором uPA способствует метастазированию раковых клеток (**рис. 19.75**).

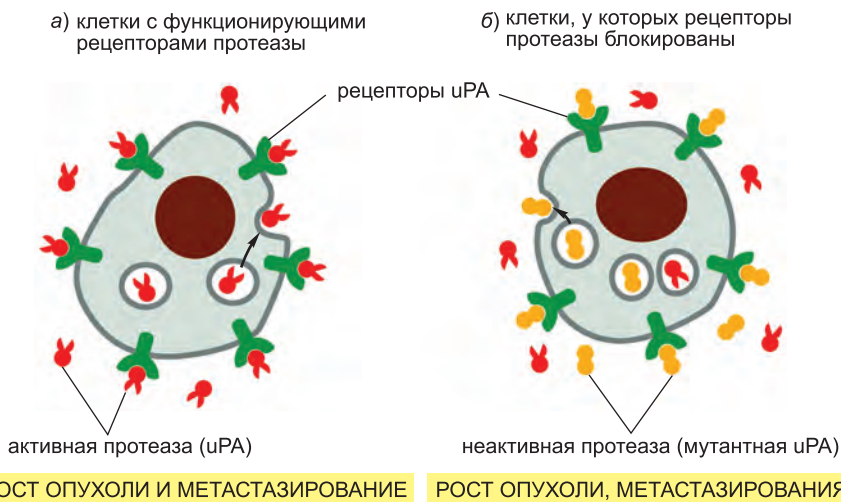


Рис. 19.75. Роль протеаз, связанных с рецепторами на поверхности клетки. а) Клетки рака простаты человека синтезируют и выделяют сериновую протеазу uPA, которая связывается с белками-рецепторами uPA на поверхности клетки. б) Те же клетки, содержащие ДНК, которая кодирует неактивную форму uPA. Неактивный белок связывается с uPA-рецепторами, но не обладает протеазной активностью; при этом он вырабатывается в избытке. Занимая большую часть uPA-рецепторов, неактивная uPA не дает активной форме связаться с поверхностью клетки. Клетки обоих типов синтезируют активную форму uPA, быстро растут и образуют опухоли при их введении экспериментальным животным. Однако клетки (а) метастазируют, а клетки (б) — нет. Для метастазирования через кровь опухолевым клеткам необходимо пройти сквозь базальную мембрану и другие виды матрикса, протискиваясь к кровеносному сосуду и при выходе из него. Эти эксперименты свидетельствуют о том, что для облегчения миграции по матриксу протеазы должны быть связаны с поверхностью клеток.

Секреция ингибиторов: область действия протеаз ограничивают различные выделяемые во внеклеточное пространство ингибиторы, в том числе тканевые ингибиторы металлопротеаз (*tissue inhibitors of metalloproteases, TIMP*) и ингибиторы сериновых протеаз — *серпины*. Ингибиторы являются специфичными к соответствующей протеазе и прочно связываются с активным ферментом, блокируя его активность. Интересно, что ингибиторы выделяются клетками, находящимися на границе области активного разрушения матрикса, защищая те участки, которые следует сохранить; они также могут защищать поверхностные белки, необходимые для миграции и установления контактов. Повышенная экспрессия TIMP подавляет миграцию клеток некоторых типов, что свидетельствует о важной роли металлопротеаз в этом процессе.

Заключение

Клетки соединительной ткани окружены сложно устроенным внеклеточным матриксом, который не только объединяет их в единое целое, но и влияет на их выживание, развитие, форму, полярность и передвижение. В состав матрикса входят различные белковые волокна, которые влетают в гидратированный гель, образованный сетью гликозаминогликановых цепочек.

Гликозаминогликаны представляют собой неоднородную группу отрицательно заряженных полисахаридных цепочек, образующих в связи с белком молекулу протеогликана (за исключением гиалуроновой кислоты). К отрицательным зарядам притягиваются осмоактивные катионы, которые насыщают воду в матрикс и удерживают его в набухшем состоянии. Поэтому матрикс занимает большой объем внеклеточного пространства. На поверхности клеток также обнаружены протеогликианы, часто действующие как корецепторы, способствующие реакции клетки на секретируемые сигнальные белки.

Фибриллообразующие белки придают матриксу прочность и устойчивость к деформациям. Они также формируют структуры, к которым прикрепляются клетки. Часто в этом участвуют большие мультидоменные гликопротеины, например ламинин и фибронектин, у которых есть множественные сайты связывания с интегринами, находящимися на поверхности клеток. Упругость обеспечивается молекулами эластина, которые формируют обширную сеть волокон и слоев, способную растягиваться и возвращаться в исходное состояние. Фибриллярные коллагены (коллагены типа I, II, III, V и XI) обеспечивают высокий предел прочности на разрыв. Эти трехцепочечные молекулы, скрученные наподобие каната, во внеклеточном пространстве могут агрегировать с образованием длинных фибрилл. В свою очередь, эти фибриллы могут объединяться различным образом. Коллагены, ассоциированные с фибриллами, например коллагены IX и XII типов, связаны с поверхностью коллагеновых фибрилл и влияют на их взаимодействие друг с другом и другими компонентами матрикса.

Компоненты матрикса могут расщепляться внеклеточными протеолитическими ферментами. Большую часть этих ферментов составляют металлопротеазы, для функционирования которых необходимы связанные ионы Ca^{2+} и Zn^{2+} . Другие являются сериновыми протеазами, у которых в активном центре имеется высоко реакционно-способный сериновый остаток. Дегградация компонентов матрикса всесторонне контролируется, и клетки могут, к примеру, локально разрушать матрикс, чтобы «расчистить» себе дорогу сквозь него.

19.7. Клеточная стенка растений

Каждая растительная клетка выстраивает вокруг себя сложно организованное матричное образование, называемое *растительной клеточной стенкой*. Именно толстые клеточные стенки пробкового дуба, увиденные в примитивный микроскоп, в 1663 г. впервые навели Роберта Гука на мысль о клетках и побудили его дать им название. Стенки соседних растительных клеток, спаянные друг с другом так, что вместе они образуют целое растение (**рис. 19.76**), как правило, толще, прочнее и, что важнее всего, жестче внеклеточного матрикса у животных. С возникновением относительно твердых клеточных стенок, достигающих порою многих микрон в толщину, растения утратили способность перемещаться и освоили прикрепленный образ жизни, свойственный практически всем ныне существующим растениям.

19.7.1. Состав клеточной стенки зависит от типа самой клетки

Все клеточные стенки растений возникают при делении клеток в тот момент, когда на стадии цитокинеза формируется клеточная пластинка, разделяющая новые дочерние клетки (см. главу 17). Новые клетки обычно возникают в осо-

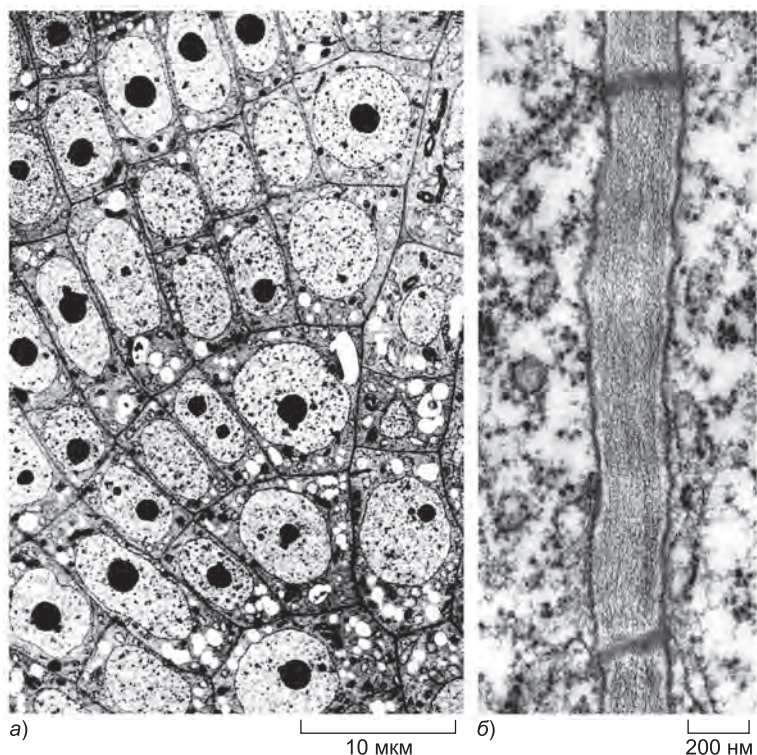


Рис. 19.76. Клеточная стенка растительных клеток. а) Электронная микрофотография клеток кончика корня у камыша. Видна регулярная структура, обусловленная строгой последовательностью деления клеток с жесткими стенками. У этих растущих клеток стенки еще довольно тонкие и выглядят как черные линии, разграничивающие клетки. б) Срез типичной клеточной стенки, разделяющей две смежные клетки растения. Две темные полосы, пересекающие стенку, — плазмодесмы (см. рис. 19.38). (а — представлено С. Busby and В. Gunning, *Eur. J. Cell Biol.* 21: 214–233, 1980. С разрешения издательства Elsevier; б — предоставлено Jeremy Burgess.)

бых участках, называемых *меристемами* (см. главу 22), и, как правило, малы по сравнению с клетками на завершающей стадии жизни. Для того, чтобы быть способными приспособливаться к растущей клетке, стенки молодых клеток, называемые **первичными клеточными стенками**, являются тонкими и растяжимыми, хотя и достаточно прочными. Когда рост прекращается, клеткам больше не нужно растягиваться: иногда первичная стенка остается без изменений, но чаще всего она заменяется твердой **вторичной клеточной стенкой**, возникающей в результате отложения новых слоев матрикса внутри предыдущих. Состав новых слоев, как правило, значительно отличается от состава первичной клеточной стенки. Наиболее широко распространенный добавочный полимер вторичной клеточной стенки — лигнин, представляющий собой сложную сеть ковалентно связанных фенольных соединений. Он обнаружен в стенках сосудов ксилемы и древесинных волокон.

Хотя клеточные стенки высших растений сильно различаются как по составу, так и по внутренней организации, их устройство, так же как и в случае матрикса животных тканей, подчиняется основному принципу, свойственному всем волокнистым материалам, включая стекловолокно и железобетон: один компонент обеспечивает прочность на разрыв, а другой, в который влетен первый, сопротивляется сжатию. Несмотря на схожие принципы строения у растений и животных, химический состав совершенно разный. В отличие от внеклеточного матрикса, богатого белком и другими азотсодержащими полимерами, в состав клеточной стенки входят почти исключительно полимеры, не содержащие азот, в том числе *целлюлоза* и лигнин. Для прикрепленных организмов, существующих за счет CO_2 , H_2O и солнечного света, эти два полимера являются энергетически недорогими строительными материалами, позволяющими сберечь дефицитный почвенный азот — нехватка именно этого элемента обычно лимитирует рост. Так, например, деревья наращивают свою биомассу в основном за счет увеличения количества целлюлозы и лигнина.

Волокна, придающие прочность клеточным стенкам высших растений, сделаны из полисахарида целлюлозы — самой распространенной на Земле органической макромолекулы. Этот полимер образует частую сеть с помощью перекрестно-связывающих гликанов. В первичных клеточных стенках матрикс, в который погружена целлюлозная сеть, состоит из *пектина* — сильно гидратированной сети полисахаридов с высоким содержанием галактуроновой кислоты. Вторичные клеточные стенки содержат дополнительные молекулы, придающие им твердость и долговечность. В частности, лигнин служит твердым водонепроницаемым наполнителем. Все эти компоненты, связанные ковалентными и нековалентными связями, формируют очень сложную структуру, состав которой, так же как толщина и внутреннее строение, зависят от типа клетки.

Таким образом, клеточная стенка играет роль «скелета», поддерживающего структуру растения как целого, а также защитную роль — окружая каждую клетку в отдельности, и транспортную роль — способствуя формированию каналов, по которым перемещаются жидкости внутри растения. Специализируясь, клетки растения, как правило, принимают специфическую форму и вырабатывают клеточную стенку особого типа; по ней можно распознать и классифицировать растительные клетки (**рис. 19.77**; см. также приложение 22.2, стр. 2146–2147). Здесь мы, однако, опишем первичную клеточную стенку, а также молекулярную архитектуру, лежащую в основе ее уникальных свойств: прочности, упругости и пластичности, проявляющихся в растущих частях растения.

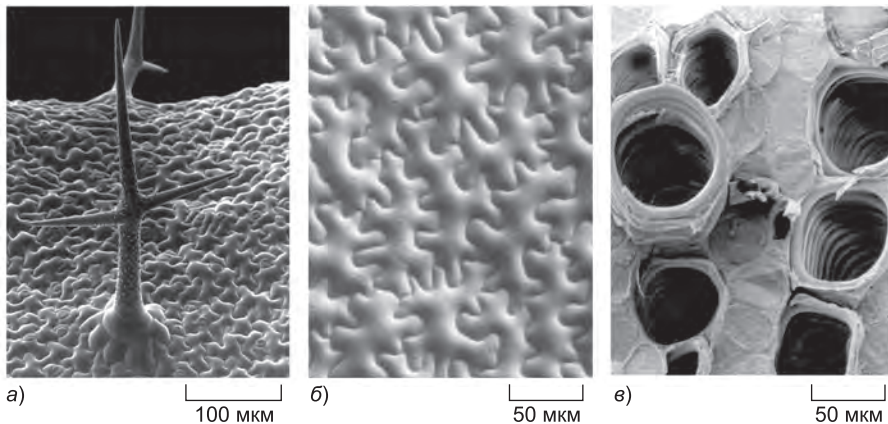


Рис. 19.77. Некоторые специализированные типы клеток, у которых соответствующим образом модифицирована клеточная стенка. *а)* Трихома, или волосок, на верхней поверхности листа *Arabidopsis*. Эта заостренная защитная клетка поддерживает такую форму благодаря жесткой клеточной стенке с большим содержанием целлюлозы. *б)* Фотография поверхности листа томата. Клетки точно соответствуют другу по форме, подобно фрагментам составной картинке. Это обеспечивает прочное и надежное покрытие листа. Внешняя клеточная стенка усилена кутикулой и, наряду с воскоподобными веществами, придающими водоотталкивающие свойства, защищает лист от патогенов. *в)* На этой фотографии ранних элементов ксилемы видна толстая, лигнифицированная и армированная кольцами вторичная клеточная стенка, образующая твердые трубки, по которым осуществляется транспорт воды по растению. (*а* — предоставлено Paul Linstead; *б* и *в* — предоставлено Kim Findlay.)

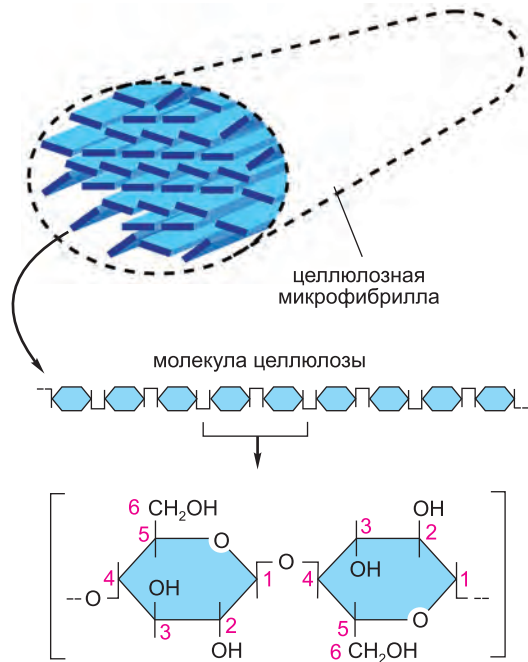
19.7.2. Высокая прочность клеточной стенки на разрыв позволяет растительным клеткам выдерживать тургорное давление

Жидкая фаза, окружающая растительную клетку — это жидкость, входящая в состав ее клеточной стенки. И хотя в ней содержится больше растворенного вещества, чем в водных растворах окружающей среды (например, почвы), она гипотонична относительно внутреннего содержания клетки. Этот осмотический дисбаланс заставляет клетку испытывать большое внутреннее гидростатическое давление, или **тургорное давление**, которое распирает клеточную стенку изнутри подобно тому, как автомобильная камера распирает покрывку шины. Тургорное давление растет до тех пор, пока не будет достигнуто осмотическое равновесие. В этой точке суммарный приток воды равен нулю, несмотря на солевой дисбаланс (см. приложение 11.1, стр. 1022). Создаваемое при этом давление может достигать 10 и даже более атмосфер, что примерно в пять раз превышает давление в автомобильной камере. Оно жизненно важно для растения, потому что именно оно заставляет клетки увеличиваться в размерах и позволяет растительным тканям сопротивляться деформации. Сравните, к примеру, увядший лист растения, которое давно не поливали, с упругим листом хорошо увлажненного растения. Растительные клетки выдерживают такое внутреннее давление именно благодаря прочности клеточной стенки.

19.7.3. Основу первичной клеточной стенки составляют целлюлозные микрофибриллы, вплетенные в сетку пектиновых полисахаридов

Целлюлоза придает первичной клеточной стенке прочность на разрыв. Каждая молекула целлюлозы представляет собой линейную цепочку длиной

Рис. 19.78. Целлюлоза. Молекулы целлюлозы представляют собой длинные неразветвленные цепи, состоящие из остатков глюкозы, связанных β 1,4-связью. Каждый остаток глюкозы инвертирован по отношению к соседним остаткам, и такая дисахаридная единица в одной молекуле целлюлозы повторяется сотни раз. В состав целлюлозной микрофибриллы входит около 40 молекул целлюлозы, объединенных водородными связями.



не менее 500 остатков глюкозы, ковалентно связанных друг с другом. Такая лентовидная структура стабилизируется внутрицепочечными водородными связями (рис. 19.78). Кроме того, межмолекулярные водородные связи, соединяя смежные молекулы целлюлозы, содействуют скреплению этих молекул в параллельно лежащие тяжи, которые перекрываются и образуют пучок примерно из 40 цепей, обладающих одинаковой полярностью.

Такие кристаллические агрегаты с упорядоченной структурой, имеющие многие микрометры в длину, называются **микрофибриллами целлюлозы**. Их прочность на разрыв сравнима с прочностью стали (рис. 19.78). Микрофибриллы организуются в слои, или ламеллы, в которых они отстоят друг от друга примерно на 20–40 нм и перекрестно сшиты длинными молекулами гликанов, прикрепленными к поверхности микрофибрилл с помощью водородных связей. Первичная клеточная стенка состоит из нескольких таких ламелл, расположенных наподобие слоев фанеры (рис. 19.79).

Перекрестно сшивающие гликаны (гемицеллюлозы) — неоднородная группа разветвленных полисахаридов, прочно связанных с поверхностью целлюлозных микрофибрилл, которые способствуют поперечному сшиванию микрофибрилл в сложную сеть. Их функция аналогична функции коллагенов, ассоциированных с фибриллами (см. рис. 19.68). Известно несколько классов гемицеллюлоз, однако все они имеют длинный неразветвленный остов, состоящий из одинаковых остатков сахара (глюкозы, ксилозы или маннозы), от которого отходят короткие боковые цепи, составленные из других сахаров. Сахарные остатки остова формируют водородные связи с поверхностью целлюлозных микрофибрилл, организуя перекрестные сшивки между ними. Сахара, входящие в состав остова и боковых цепей, изменяются в зависимости от вида растения и стадии его развития.

Наряду с сетью целлюлозных микрофибрилл и гемицеллюлозы в состав клеточной стенки входит еще одна поперечно-связанная сеть — **пектины** (см. рис. 19.79). Пектины — неоднородная группа разветвленных полисахаридов, богатых отрицательно заряженной галактуроновой кислотой. Из-за большого отрицательного заряда пектины сильно гидратированы и активно связывают катионы, занимая при этом большой объем, подобно гликозаминогликанам в животных тканях (см. рис. 19.56). Если к раствору молекул пектина добавить Ca^{2+} , то ионы сшивают их

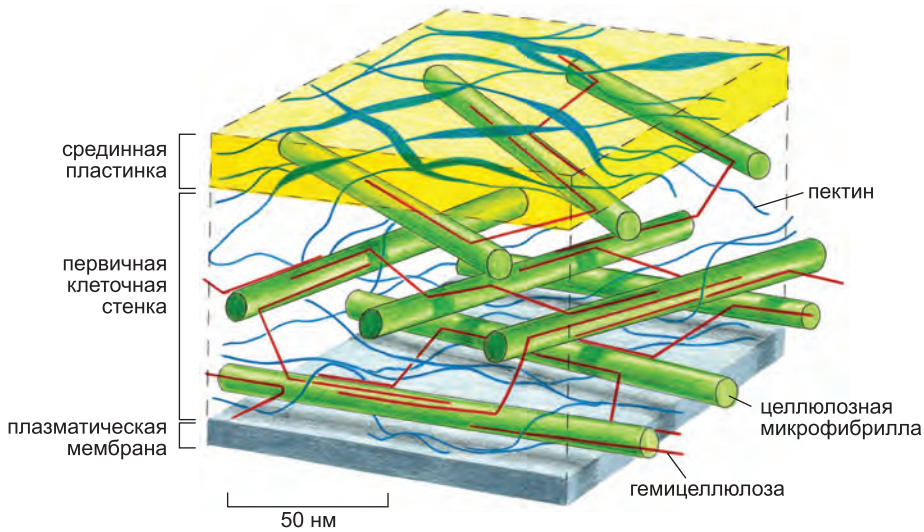


Рис. 19.79. Модель участка первичной клеточной стенки растений: две основные полисахаридные сети. Все компоненты изображены в одном масштабе. Слои перпендикулярно ориентированных целлюлозных микрофибрилл (зеленый цвет) связаны в единую сеть с помощью гликанов гемицеллюлозы (показаны красным), образующих перекрестные сшивки. Эти гликаны образуют водородные связи с микрофибриллами. Целлюлозная сеть переплетена с сетью пектинового матрикса (синий). Сеть целлюлозных микрофибрилл и гликанов обеспечивает прочность на разрыв, а пектиновый матрикс оказывает сопротивление сжатию. Содержание целлюлозы, гемицеллюлозы и пектина, как правило, в первичной клеточной стенке примерно одинаково. Срединная пластинка особенно богата пектином; она прочно скрепляет друг с другом соседние клетки.

друг с другом, в результате чего образуется полутвердый гель (поэтому-то пектин добавляют к фруктовым сокам, чтобы получить желе). Содержание некоторых пектинов особенно велико в срединной пластинке, склеивающей стенки соседних клеток (см. рис. 19.79); считают, что здесь кальциевые сшивки помогают скреплять компоненты клеточных стенок. Ковалентные связи тоже участвуют в соединении компонентов друг с другом, однако об их природе почти ничего не известно. Регулируемое разделение клеток по срединной пластинке лежит в основе таких явлений как созревание томатов и осенний листопад.

Кроме двух полисахаридных сетей, занимающих большую часть объема первичной клеточной стенки растений, в ней имеются белки, причем последние могут составлять вплоть до 5% сухой массы клеточной стенки. Многие из этих белков являются ферментами, участвующими в синтезе клеточной стенки, ее перестройке и разрушении. Особенно это касается периода роста. Белки клеточной стенки, принадлежащие другому классу, содержат, подобно коллагену, большое количество гидроксипролина. Полагают, что эти белки придают клеточной стенке дополнительную прочность и особенно интенсивно вырабатываются в ответ на воздействие патогенов. Исходя из геномной последовательности *арабидопсиса*, было оценено, что для синтеза, сборки и возможных перестроек клеточной стенки растению требуется более 700 генов. Некоторые основные полимеры первичной и вторичной клеточной стенки перечислены в [таблице 19.8](#).

Таблица 19.8. Полимеры клеточной стенки растений

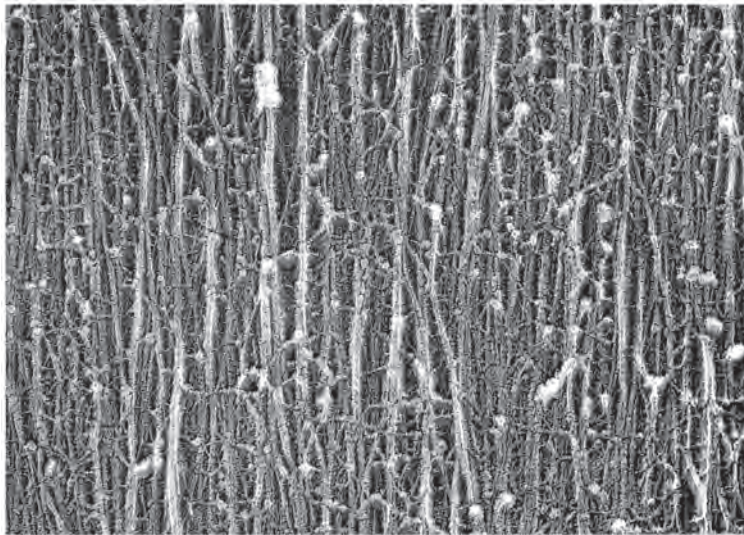
| ПОЛИМЕР | СОСТАВ | ФУНКЦИИ |
|--------------------------|---|---|
| Целлюлоза | линейный полимер глюкозы | фибриллы придают прочность на разрыв; имеются во всех стенках |
| Гемицеллюлоза | ксилогликан, глюкуроноарабиноксилан и маннан | сшивание целлюлозных фибрилл в твердую сеть |
| Пектин | гомогалактуронаны и рамногалактуронаны | образует отрицательно заряженную гидрофильную сеть, оказывающую механическое сопротивление сжатию; межклеточная адгезия |
| Лигнин | перекрестно-сшитые кумарильный, кониферильный и синапилловый спирты | высокопрочный водостойкий полимерный материал, усиливающий вторичную клеточную стенку |
| Протеины и гликопротеины | ферменты, белки с большим содержанием гидроксипролина | отвечают за перестройку и обновление стенки; участвуют в защите от патогенов |

19.7.4. Отложение ориентированных волокон клеточной стенки контролирует на рост клетки

Когда растительная клетка покидает меристему, в которой возникла, она начинает очень интенсивно расти, порой увеличиваясь в размерах более чем в тысячу раз. То, как это происходит, влияет на конечную форму каждой клетки и, как следствие, на форму всего растения. Увеличение в размерах стимулируется тургорным давлением, однако его направление и степень зависят именно от того, как ведет себя клеточная стенка. При этом, наряду с отложением нового материала клеточной стенки, происходят ее сложные перестройки. Благодаря своей кристаллической структуре отдельная целлюлозная микрофибрилла не может растягиваться, и это свойство играет определяющую роль. Чтобы клеточная стенка могла растянуться или деформироваться, микрофибриллы должны либо скользить друг относительно друга, либо расходиться в пространстве, или же должны происходить оба процесса. Ориентация микрофибрилл внутренних слоев стенки определяет, в каком направлении клетка будет увеличиваться. Поэтому клетки растений могут принимать нужную форму, откладывая целлюлозные микрофибриллы клеточной стенки в соответствующей ориентации (рис. 19.80).

В отличие от большинства макромолекул матрикса, синтезируемых в эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи и выделяемых наружу, целлюлоза, подобно гиалуроновой кислоте у животных, вырабатывается прямо на поверхности клетки с помощью связанного с плазматической мембраной ферментного комплекса (целлюлозосинтазы), который в качестве субстрата использует UDP-глюкозу, поступающую из цитоплазмы. Отдельный ферментный комплекс, или «розетка», обладает шестилучевой симметрией и содержит белки, кодируемые тремя разными генами целлюлозосинтазы (генами *CESA*). Каждый *CESA*-белок необходим для синтеза целлюлозной микрофибриллы. Три *CESA* гена задействованы в синтезе первичной клеточной стенки и еще три — в синтезе вторичной клеточной стенки.

По мере синтеза целлюлозные цепи собираются в микрофибриллы. Микрофибриллы растут от поверхности клетки во внеклеточное пространство, образуя слой (ламеллу), в которой микрофибриллы имеют более-менее одинаковую ориентацию (см. рис. 19.79). Каждая новая ламелла откладывается с внутренней



а) 200 нм

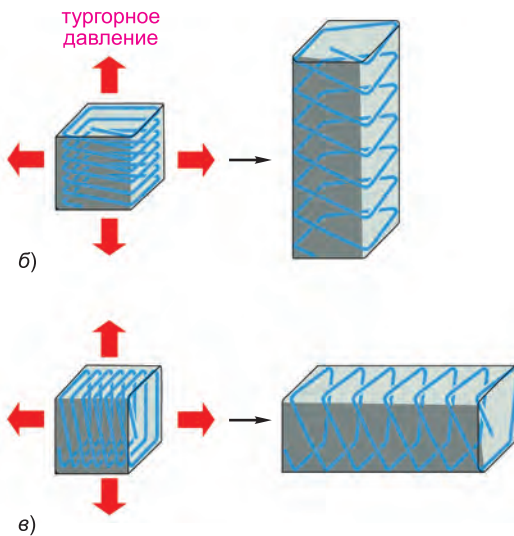


Рис. 19.80. Ориентация целлюлозных микрофибрилл определяет направление роста клеток. а) Электронная микрофотография первичной клеточной стенки у моркови (препарат представляет собой реплику первичной клеточной стенки, полученную методом напыления после замораживания и глубокого травления). Целлюлозные микрофибриллы параллельны друг другу и перпендикулярны оси удлинения клетки. Они вплетены в сложную сеть молекул матрикса (ср. с рис. 19.79). Клетки на рисунках (б) и (в) изначально имеют одинаковую кубическую форму, но ориентации целлюлозных микрофибрилл в их стенках различаются. Несмотря на то что тургорное давление действует во все стороны одинаково, клетки могут растягиваться лишь в направлении, перпендикулярном ориентации микрофибрилл внутреннего слоя, обладающего большей прочностью на разрыв. Растяжение клетки происходит одновременно с отложением нового материала клеточной стенки. Окончательная форма органа (например, побега) отчасти определяется направлением, в котором клетки могут удлиняться. (а — с любезного разрешения Brian Wells and Keith Roberts.)

стороны от предыдущего слоя, так что образующаяся клеточная стенка состоит из концентрических ламелл, самая старая из которых находится снаружи. Недавно синтезированные микрофибриллы удлиняющихся клеток, как правило, ориентированы перпендикулярно оси удлинения, хотя ориентация микрофибрилл во внешней ламелле, отложенной гораздо раньше, может отличаться (см. рис. 19.80, б и в).

19.7.5. Ориентацию микрофибрилл определяют микротрубочки

Ключ к разгадке механизма, определяющего ориентацию микрофибрилл, дали наблюдения за микротрубочками растительных клеток. Последние часто располагаются в примембранном слое цитоплазмы в той же ориентации, что и целлюлозные микрофибриллы, синтезируемые в данный момент в этом месте. Белки, удерживающие кортикальные микротрубочки вблизи мембраны, изучены недостаточно (рис. 19.81). Совпадение ориентации кортикальных микротрубочек (находящихся сразу за плазматической мембраной) и целлюлозных микрофибрилл (находящихся непосредственно перед ней) обнаружено в растительных клетках различных типов и форм и наблюдается при синтезе как первичной, так и вторичной клеточной стенки. Это наводит на мысль о наличии причинно-следственной связи между микротрубочками и синтезом микрофибрилл.

Наличие этой связи можно проверить, воздействуя на растительные клетки веществом, деполимеризующим микротрубочки, чтобы распалась вся система кортикальных микротрубочек. Это не скажется на синтезе целлюлозы так прямо, как можно было бы ожидать. Воздействие вещества не приводит к прекращению выработки новых микрофибрилл, а в некоторых случаях клетки могут даже продолжать синтезировать новые микрофибриллы в той же ориентации. Однако изменение их ориентации, которое обычно наблюдается при нормальном синтезе клеточной стенки, становится невозможным. Вероятнее всего, микрофибриллы могут синтезироваться в последней ориентации даже в отсутствие микротрубочек, однако для любого изменения ориентации вновь синтезируемых целлюлозных микрофибрилл требуются интактные микротрубочки, определяющие новую ориентацию.

Эти наблюдения приводят к следующей модели. «Розетки» целлюлозосинтазного комплекса, встроенные в плазматическую мембрану, синтезируют длинные молекулы целлюлозы. В процессе синтеза молекул и их объединения в микрофибриллы дистальные концы последних предположительно формируют не прямые поперечные сшивки с предыдущим слоем, ориентируя новые микрофибриллы параллельно старым и встраивая их в структуру клеточной стенки. Ввиду жесткости микрофибриллы розетки, располагающиеся на их растущем проксимальном конце, вынуждены двигаться в плоскости мембраны параллельно микрофибриллам предыдущего слоя, с которыми связан дистальный конец. Таким образом, каждый новый слой микрофибрилл стремится принять ту же ориентацию, что и предыдущий слой, причем розетки следуют направлению уже существующих вне клетки микрофибрилл. Однако ориентированные по-своему микротрубочки, находящиеся внутри клетки, могут изменять направление движения розеток: они способны препятствовать их движению (рис. 19.82) подобно тому, как берега канала направляют движение воды по руслу. С этой точки зрения синтез целлюлозы возможен независимо от наличия микротрубочек; однако этот процесс ограничивается в пространстве, если имеются микротрубочки, определяющие микроскопические участки мембраны, где разрешено движение ферментного комплекса.

Таким образом, растительные клетки могут изменять направление своего растяжения, резко меняя ориентацию кортикальных микротрубочек. Поскольку рас-

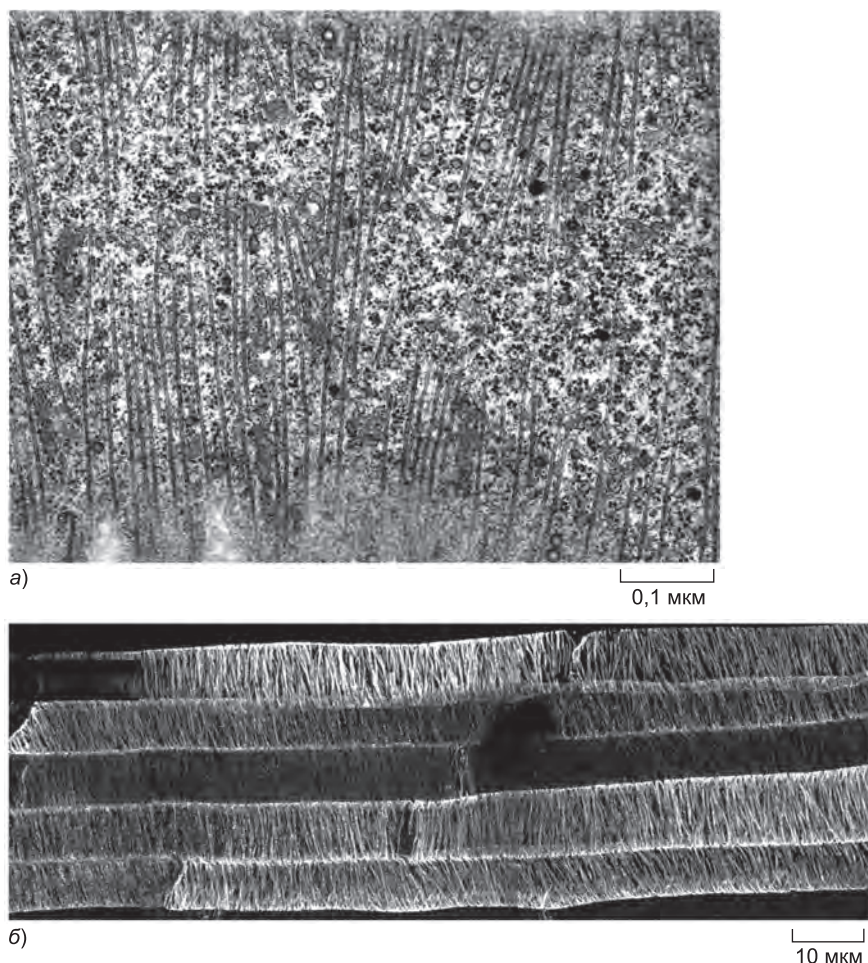


Рис. 19.81. Расположение кортикальных микротрубочек. *а)* Тангенциальный срез клетки из кончика корня тимефеевки. Видны кортикальные микротрубочки, лежащие непосредственно под плазматической мембраной; они расположены под прямым углом к продольной оси клетки. *б)* Эпидермальные клетки кончика корня *Arabidopsis*, окрашенные флуоресцентными антителами. Такая окраска позволяет выявить характер расположения кортикальных микротрубочек в этих быстро удлиняющихся клетках. Ясно различимые микротрубочки ориентированы перпендикулярно оси удлинения корня. (*а* — предоставлено Brian Gunning; *б* — предоставлено Keiko Sugimoto-Shirasu.)

тительные клетки не могут двигаться (они ограничены своей клеточной стенкой), морфология целого многоклеточного растения зависит от координированной, тщательно организованной смены ориентаций кортикальных микротрубочек в процессе развития. До сих пор не известен механизм, контролирующий эти ориентации, однако показано, что микротрубочки могут быстро менять ориентацию в ответ на внеклеточные стимулы, в том числе низкомолекулярные фитогормоны, такие как этилен и гибберелловая кислота (см. рис. 22.119).

Однако микротрубочки — не единственные элементы цитоскелета, влияющие на синтез клеточной стенки. Локальные фокусы кортикальных актиновых филамен-

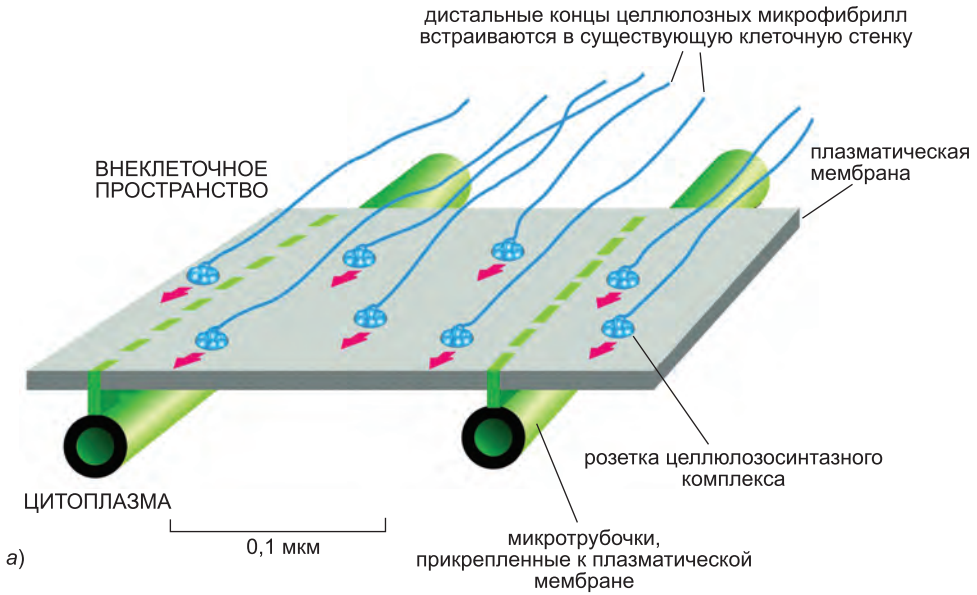
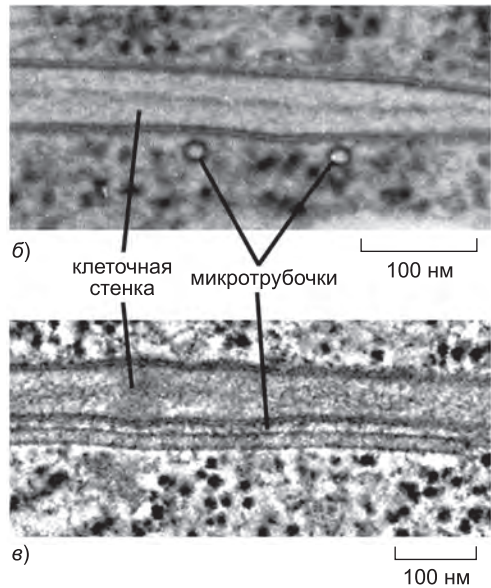


Рис. 19.82. Одна из моделей, объясняющих, как направление кортикальных микротрубочек может определять ориентацию вновь синтезируемых целлюлозных микрофибрилл. *а)* Большие комплексы целлюлозосинтазы — интегральные мембранные белки, непрерывно синтезирующие целлюлозные микрофибриллы на внешней поверхности плазматической мембраны. Дистальные концы жестких микрофибрилл встраиваются в текстуру клеточной стенки, а проксимальный конец удлиняется, толкая синтазный комплекс в плоскости мембраны. Поскольку кортикальные микротрубочки, прикрепленные к мембране, ограничивают движение комплекса узкими участками мембраны, ориентация этих микротрубочек (если они есть) определяет направление, в котором закладываются новые микрофибриллы. *б и в)* Две электронные микрофотографии, показывающие прочную связь кортикальных микротрубочек с мембраной: поперечный (*б*) и продольный (*в*) срезы микротрубочек. На обеих фотографиях различим постоянный зазор шириной около 20 нм между мембраной и микротрубочками; молекулы, прикрепляющие микротрубочки к мембране, не видны. (*б и в:* с любезного разрешения Andrew Staehelin.)



тов могут также влиять на выработку нового материала клеточной стенки в определенных точках клеточной поверхности, приводя к сложной форме, характерной для многих дифференцированных растительных клеток, таких как трихомы листа и эпидермальные клетки, показанные на рис. 19.77. Клетки растений, неспособных к выработке кортикальной актинового сети, например, мутантов по *Arp2/3*, теряют свою характерную форму, см. рис. 16.35.

Заключение

Растительные клетки окружены жестким внеклеточным матриксом, или клеточной стенкой, которая определяет многие уникальные черты образа жизни растения. Эта стенка образована сетью целлюлозных микрофибрилл и перекрестно-сшивающих гликанов, погруженных в матрикс из пектиновых полисахаридов, характеризующийся большим количеством перекрестных сшивок. В состав вторичной клеточной стенки может входить лигнин, придающий ей характерные свойства древесины: твердость и водонепроницаемость. Кортикальные микротрубочки могут контролировать ориентацию вновь синтезируемых целлюлозных микрофибрилл, которые, в свою очередь, определяют направление растяжения клетки, ее конечную форму и, наконец, форму растения как целого.

Задачи

Какие из утверждений верны? Обоснуйте свой ответ

19.1. Поскольку многие процессы в клетке регулируются через изменение концентрации Ca^{2+} , вполне возможно, что Ca^{2+} -зависимые межклеточные контакты также регулируются путем изменения концентрации Ca^{2+} .

19.2. Плотные контакты выполняют две различные функции: они герметизируют пространство между клетками, не допуская поток веществ, и разграничивают участки мембраны, содержащие апикальные и базолатеральные белки.

19.3. Интегрины способны преобразовывать механические сигналы в молекулярные.

19.4. Упругие свойства эластина обусловлены высоким содержанием α -спиралей, действующих как молекулярные пружины.

Поразмышляйте над следующим

19.5. Уоррен Льюис, один из основоположников клеточной биологии, в 1922 году писал: «Стоит клеткам перестать липнуть друг к другу и поддерживающему их внеклеточному матриксу — и наши тела немедленно распадутся и растекутся по земле сплошным потоком клеток». Прокомментируйте эту цитату.

19.6. Молекулы клеточной адгезии были идентифицированы с помощью антител к молекулам на поверхности клеток, которые не давали клеткам агрегировать. При этом выяснилось, что для блокировки необходимо использовать не интактные IgG-антитела, имеющие Y-образную форму и два идентичных сайта связывания антигена, а их фрагменты (так называемые Fab-фрагменты), на каждом из которых

находится по одному сайту связывания. Fab-фрагменты получены с помощью протеазы папаина, способной разделить два сайта связывания (рис. Q19.1). Как Вы думаете, почему для блокировки агрегации клеток необходимы именно Fab-фрагменты?

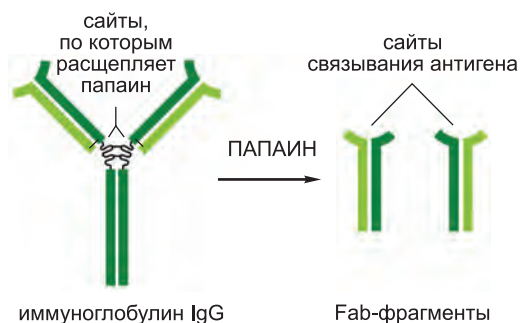


Рис. Q19.1. Получение Fab-фрагментов из антител IgG при воздействии папаина (к задаче 19.6).

19.7. Бактерия *Clostridium perfringens*, отравляющая пищевые продукты, вырабатывает токсин, связывающийся с представителями белкового семейства клаудинов, являющимися основными компонентами плотных контактов. С-конец связанного с клаудином токсина позволяет N-концевому участку внедряться в мембрану соседней клетки и делать в ней отверстия, что убивает эту клетку. Та часть токсина, которая связывается с клаудином, является ценным реагентом, используемым для исследования свойств плотных контактов. Обычно для этого используются клетки MDCK, поскольку они образуют интактный эпителиальный слой, практически не пропускающий вещества в трансэпителиальном направлении. Клетки MDCK вырабатывают два клаудина: клаудин-1, не связывающийся с токсином, и клаудин-4, способный к этому.

Если интактный эпителиальный пласт клеток MDCK инкубировать с С-концевым фрагментом токсина, то клаудин-4 исчезает — он не обнаруживается в клетках уже через 24 часа. В отсутствие клаудина-4 клетки остаются здоровыми, а эпителиальный пласт выглядит интактным. Среднее количество цепочек в плотных контактах, соединяющих клетки, уменьшается с четырех до двух в течение 24 часов, а сами цепочки становятся не столь разветвленными. Функциональная проверка целостности плотных контактов показывает, что проницаемость в присутствии токсина сильно уменьшается, однако герметичность можно восстановить, смыв токсин с препарата (рис. Q19.2, а). Любопытно, что эти эффекты наблюдают только в том случае, когда токсин добавлен с базолатеральной стороны пласта; при его добавке с апикальной стороны он не оказывает никакого влияния (рис. Q19.2, б).

А. Каким образом двум цепочкам плотных контактов удается остаться, несмотря на полное исчезновение клаудина-4?

Б. Как Вы думаете, почему фрагмент токсина заставляет цепочки плотных контактов исчезать?

В. Как Вы объясните то, что токсин действует при добавлении его с базолатеральной стороны эпителиального пласта, но не оказывает никакого влияния, будучи добавлен с апикальной стороны?

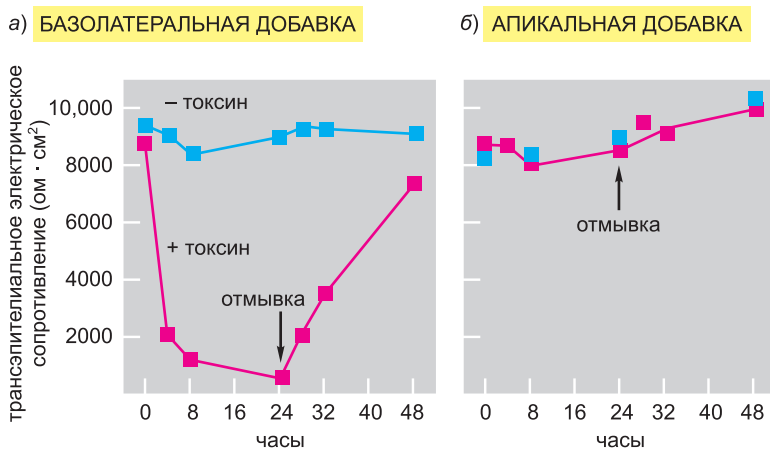


Рис. Q19.2. Влияние токсина из *Clostridium* на барьерную функцию клеток MDCK (к задаче 19.7). Токсин вводили со стороны базолатеральной поверхности эпителиального пласта (а) и с апикальной стороны (б). При постоянном напряжении чем больше сопротивление (в $\text{ohm} \cdot \text{cm}^2$), тем меньше электрический ток, текущий с одной стороны пласта на другую.

19.8. Приписать конкретную функцию тому или иному компоненту базальной мембраны непросто, так как вся эта структура представляет собой сложный композит, имеющий как механические свойства, так и сигнальные функции. Например, нидоген образует перекрестную сшивку двух главных компонентов базальной мембраны: он связывается с $\gamma 1$ -цепью ламинина и с коллагеном IV типа. Однако, что удивительно, мыши, гомозиготные по нокаутированному гену нидогена-1, рождаются абсолютно здоровыми, без каких-либо дефектов в фенотипе. Аналогично мыши, гомозиготные по нокаутированному гену нидогена-2, также оказываются совершенно здоровыми. Однако мыши, гомозиготные по мутантному гену ламинина- $\gamma 1$, в котором отсутствует лишь сайт связывания нидогена, умирают при рождении от серьезных нарушений развития легких и почек. Считают, что затронутая мутацией часть $\gamma 1$ -цепи ламинина не выполняет иной функции кроме связывания нидогена и не влияет ни на структуру ламинина, ни на его способность встраиваться в базальную мембрану. Результаты генетических экспериментов суммированы в **таблице Q19.1**. Как бы Вы объяснили эти наблюдения? Как Вы думаете, какой фенотип будет иметь мышь, гомозиготная по нокаутированным генам обоих нидогенов?

Таблица Q19.1. Фенотипы мышей с нарушениями компонентов базальной мембраны (к задаче 19.8)

| БЕЛОК | ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ДЕФЕКТ | ФЕНОТИП |
|--------------------|---|----------------|
| нидоген-1 | нокаут гена (-/-) | нет |
| нидоген-2 | нокаут гена (-/-) | нет |
| ламнин- $\gamma 1$ | делеция сайта связывания нидогена (+/-) | нет |
| ламнин- $\gamma 1$ | делеция сайта связывания нидогена (-/-) | мертворождение |

19.9. Обдумайте следующее высказывание: «Базальная мембрана мышечных волокон выступает в роли молекулярной доски объявлений: прилегающие клетки могут публиковать на ней свои сообщения, которые принимают к сведению дифференцирующиеся и функционирующие клетки, находящиеся по другую сторону базальной мембраны».

19.10. Сродство интегринов к компонентам матрикса изменяется в зависимости от конформации их цитоплазматических доменов; этот процесс известен как передача сигнала изнутри наружу. Предположим, Вам удалось идентифицировать в цитоплазматических доменах интегрин $\alpha 11\beta 3$ ключевой участок, необходимый для осуществления такой передачи сигнала (**рис. Q19.3**). Замена либо D723 в β -цепи, либо R995 в α -цепи на аланин ведет к тому, что интегрин

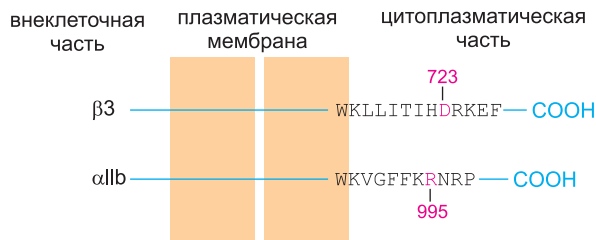


Рис. Q19.3. Схематическое представление интегрин $\alpha 11\beta 3$ (к задаче 19.10). Красным выделены остатки D723 и R995. (Из Р. Е. Hughes et al., *J. Biol. Chem.* 271: 6571–6574, 1996. С разрешения American Society for Biochemistry and Molecular Biology.)

с большой вероятностью самопроизвольно активируется даже в тех условиях, при которых цепи дикого типа остаются неактивными. Ваш научный руководитель предлагает Вам заменить аспаргат в β -цепи на аргинин (D723R), а аргинин в α -цепи — на аспаргат (R995D). Вы сравниваете три полученные α -цепи (R995, R995A и R995D) с тремя β -цепями (D723, D723A и D723R) и обнаруживаете, что все пары с большой вероятностью самоактивируются, за исключением пары D723-R995 (дикий тип) и D723R-R995D, для которых вероятность спонтанной активации мала. Используя эти результаты, предположите, за счет чего интегрин α IIb β 3 удерживается в неактивном состоянии.

19.11. Карбоксиметил-Сефадекс представляет собой отрицательно заряженный перекрестно сшитый декстран, широко используемый для очистки белков. Он поставляется в виде сухих гранул, которые чрезвычайно сильно разбухают в воде. Вы приготовили колонку с разбухшим гелем. Затем начали уравнивать колонку буфером, содержащим 50 мМ NaCl при нейтральном pH, и, к своей досаде, обнаружили, что гель стал интенсивно уменьшаться в объеме. Почему же Сефадекс столь сильно набухает в воде? И почему разбухший гель столь сильно сжимается при добавлении раствора соли?

19.12. При температуре тела L-аспаргат в белках с измеримой скоростью переходит в D-аспаргат. Большинство белков тела имеют очень низкий, если вообще заметный, уровень D-аспартата. Однако в эластине содержание D-аспартата необычайно высоко. Более того, количество D-аспартата в этом белке увеличивается прямо пропорционально возрасту человека. Как Вы думаете, почему большинство белков содержат мало D-аспартата, а в эластине содержание этой формы велико и к тому же зависит от возраста?

19.13. Сегодня Ваш руководитель обедает у Вас! Однако на закуску у Вас есть лишь оставшийся со вчерашнего дня сохшийся кочан салата. Вы смутно вспоминаете, что есть какой-то фокус, с помощью которого можно омолодить увядший салат, но вот какой именно? Куда Вы должны его поместить — в раствор соли, в воду из-под крана или в сахарный сироп? Или, быть может, нужно просто-напросто выставить салат на яркий свет и ждать, пока фотосинтез оживит его?

19.14. Влагопроводность единичного водного канала составляет $4,4 \times 10^{-22}$ м³ в секунду на 1 МПа (мегапаскаль) давления. Чему это соответствует в единицах молекул воды в секунду при атмосферном давлении? [Атмосферное давление составляет 0,1 МПа (1 бар), а молярная концентрация воды в воде — 55,5 М.]

Литература

Общая

Beckerle M. (ed.) (2002) Cell Adhesion. Oxford: Oxford University Press.

Kreis T. & Vale R. (ed.) (1999) Guidebook to the Extracellular Matrix, Anchor, and Adhesion Proteins, 2nd ed. Oxford: Oxford University Press.

Miner J. H. (ed) (2005) Extracellular Matrix in Development and Disease (Advances in Developmental Biology, Vol. 15). Elsevier Science.

Кадгерины и межклеточная адгезия

Garrod D. R., Merritt A. J. & Nie Z. (2002) Desmosomal cadherins. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14: 537–545.

Gumbiner B.M. (2005) Regulation of cadherin-mediated adhesion in morphogenesis. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 6: 622–634.

King N., Hittinger C.T. & Carroll S.B. (2003) Evolution of key cell signaling and adhesion protein families predates animal origins. *Science* 301: 361–363.

Kowalczyk A.P. & Reynolds A.B. (2004) Protecting your tail: regulation of cadherin degradation by p120-catenin. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 522–527.

Nelson W.J. & Nusse R. (2004) Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science* 303: 1483–1487.

Pokutta S. & Weis W.I. (2007) Structure and mechanism of cadherins and catenins in cell-cell contacts. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* in press.

Rosen S.D. (2004) Ligands for L-selectin: homing, inflammation, and beyond. *Annu. Rev. Immunol.* 22: 129–156.

Scheiffele P., Fan J., Choih J., Fetter R. & Serafini T. (2000) Neuroligin expressed in nonneuronal cells triggers presynaptic development in contacting axons. *Cell* 101: 657–669.

Shapiro L., Love J. & Colman D.R. (2007) Adhesion molecules in the nervous system: structural insights into function and diversity. *Annu. Rev. Neurosci.* 30: 451–474.

Sheng M. & Hoogenraad C.C. (2007) The postsynaptic architecture of excitatory synapses: a more quantitative view. *Annu. Rev. Biochem.* 76: 823–847.

Takeichi M. (2007) The cadherin superfamily in neuronal connections and interactions. *Nature Rev. Neurosci.* 8: 11–20.

Vestweber D. (2002) Regulation of endothelial cell contacts during leukocyte extravasation. *Curr. Opin. Cell Biol.* 14: 587–593.

Yamagata M., Sanes J.R. & Weiner J.A. (2003) Synaptic adhesion molecules. *Curr. Opin. Cell Biol.* 15: 621–632.

Yang J., Mani S.A., Donaher J.L. et al. (2004) Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell* 117: 927–939.

Плотные контакты и организация эпителия

Furuse M., Hata M., Furuse K. et al. (2002) Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. *J. Cell Biol.* 156: 1099–1111.

Ikenouchi J., Furuse M., Furuse K. et al. (2005) Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *J. Cell Biol.* 171: 939–945.

Henrique D. & Schweisguth F. (2003) Cell polarity: the ups and downs of the Par6/aPKC complex. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 13: 341–350.

Nelson W.J. (2003) Adaptation of core mechanisms to generate cell polarity. *Nature* 422: 766–774.

O'Brien L.E., Jou T.S., Pollack A.L. et al. (2001) Raci orientates epithelial apical polarity through effects on basolateral laminin assembly. *Nature Cell Biol.* 3: 831–838.

Seifert J.R. & Mlodzik M. (2007) Frizzled/PCP signalling: a conserved mechanism regulating cell polarity and directed motility. *Nature Rev. Genet.* 8: 126–138.

Shin K., Fogg V.C. & Margolis B. (2006) Tight junctions and cell polarity. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 22: 207–236.

Пути перехода веществ из клетки в клетку: щелевые контакты и плазмодесмы

Cilia M. L. & Jackson D. (2004) Plasmodesmata form and function. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 500–506.

Gaietta G., Deerinck T. J., Adams S. R. et al. (2002) Multicolor and electron microscopic imaging of connexin trafficking. *Science* 296: 503–507.

Goodenough D. A. & Paul D. L. (2003) Beyond the gap: functions of unpaired connexon channels. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 4: 285–294.

Segretain D. & Falk M. M. (2004) Regulation of connexin biosynthesis, assembly, gap junction formation, and removal. *Biochim. Biophys. Acta.* 1662: 3–21.

Wei C. J., Xu X. & Lo C. W. (2004) Connexins and cell signaling in development and disease. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20: 811–838.

Базальная мембрана

Miner J. H. & Yurchenco P. D. (2004) Laminin functions in tissue morphogenesis. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20: 255–284.

Sanes J. R. (2003) The basement membrane/basal lamina of skeletal muscle. *J. Biol. Chem.* 278: 12601–12604.

Sasaki T., Fassler R. & Hohenester E. (2004) Laminin: the crux of basement membrane assembly. *J. Cell Biol.* 164: 959–963.

Yurchenco P. D., Amenta P. S. & Patton B. L. (2004) Basement membrane assembly, stability and activities observed through a developmental lens. *Matrix Biol.* 22: 521–538.

Интегрины и прикрепление клеток к матриксу

Galbraith C. G., Yamada K. M. & Sheetz M. P. (2002) The relationship between force and focal complex development. *J. Cell Biol.* 159: 695–705.

Hynes R. O. (2002) Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 110: 673–687.

Luo B. H. & Springer T. A. (2006) Integrin structures and conformational signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18: 579–586.

Nayal A., Webb D. J. & Horwitz A. F. (2004) Talin: an emerging focal point of adhesion dynamics. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 94–98.

Vogel V. & Sheetz M. (2006) Local force and geometry sensing regulate cell functions. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 7: 265–275.

Внеклеточный матрикс соединительных тканей животных

Aszodi A., Legate K. R., Nakchbandi I. & Fassler R. (2006) What mouse mutants teach us about extracellular matrix function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 22: 591–621.

Bulow H. E. & Hobert O. (2006) The molecular diversity of glycosaminoglycans shapes animal development. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 22: 375–407.

Couchman J. R. (2003) Syndecans: proteoglycan regulators of cell-surface miao-domains. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 4: 926–937.

Hotary K. B., Allen E. D., Brooks P. C. et al. (2003) Membrane type I matrix metalloproteinase usurps tumor growth control imposed by the three-dimensional extracellular matrix. *Cell* 114: 33–45.

Kielty C. M., Sherratt M. J. & Shuttleworth C. A. (2002) Elastic fibres. *J. Cell Sci.* 115: 2817–2828.

Larsen M., Artym W., Green J. A. & Yamada K. M. (2006) The matrix reorganized: extracellular matrix remodeling and integrin signaling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 18: 463–471.

Lin X. (2004) Functions of heparan sulfate proteoglycans in cell signaling during development. *Development* 131: 6009–6021.

Mott J. D. & Werb Z. (2004) Regulation of matrix biology by matrix metalloproteases. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 558–564.

Prockop D. J. & Kivirikko K. I. (1995) Collagens: molecular biology, diseases, and potentials for therapy. *Annu. Rev. Biochem.* 64: 403–434.

Toole B. P. (2001) Hyaluronan in morphogenesis. *Semin. Cell Dev. Biol.* 12: 79–87.

Клеточная стенка растений

Carpita N. C. & McCann M. (2000) The Cell Wall. In *Biochemistry and Molecular Biology of Plants* (Buchanan B. B., Gruissem W. & Jones R. L. eds.), pp. 52–108. Rockville, MD: ASPB.

Carpita N. C., Campbell M. & Tierney M. (eds.) (2001) Plant cell walls. *Plant Mol. Biol.* 47: 1–340 (special issue).

Dhugga K. S. (2001) Building the wall: genes and enzyme complexes for polysaccharide synthases. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 488–493.

McCann M. C. & Roberts K. (1991) Architecture of the primary cell wall. In *The Cytoskeletal Basis of Plant Growth and Form* (Lloyd CW ed.), pp. 109–129. London: Academic Press.

Smith L. G. & Oppenheimer D. G. (2005) Spatial control of cell expansion by the plant cytoskeleton. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21: 271–295.

Somerville C. (2006) Cellulose synthesis in higher plants. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 22: 53–78.

Рак

От рака умирает каждый пятый житель Земли; однако глава об этой болезни включена в книгу по другим причинам. Раковые клетки ведут себя вопреки большинству принципов построения многоклеточного организма и не упускают не одной возможности нарушить правила. Изучая эти отклонения, мы узнаем, что является для клетки нормой и что заставляет клетки следовать этой линии поведения. Поэтому для клеточной биологии феномен рака имеет уникальное значение, и исследования рака могут оказаться неоценимо полезными не только при изучении болезни как таковой, но и для всей биомедицинской науки.

Многие фундаментальные открытия в клеточной биологии совершены в стремлении победить рак. Обнаружены многие неизвестные до тех пор белки, нарушение функции которых может привести к неконтролируемому росту, ускоренному делению, пониженной смертности и другим аномальным свойствам раковых клеток. Среди них — белки, участвующие в репарации ДНК (см. главу 5), сигнальных путях (см. главу 15), клеточном цикле и росте клеток (см. главу 17), программируемой клеточной смерти (апоптозе, глава 18) и в построении тканей (глава 19).

В этой главе мы в первую очередь изложим естественную историю болезни с точки зрения внутреннего устройства клеток. Во втором разделе мы обсудим молекулярные изменения, делающие клетку раковой. Наконец, в завершение главы мы рассмотрим, как наши знания об этой болезни могут помочь улучшить методы профилактики и лечения рака.

20.1. Рак как микроэволюционный процесс

Тело животного подобно сообществу или экосистеме. Членами этого сообщества являются клетки, размножающиеся делением и объединяющиеся в организованные ансамбли, называемые тканями. Однако сообщество это необычное, так как оно основано не на выживании наиболее приспособленных, а наоборот, на альтруизме, доходящем до самопожертвования. В конце концов всякая соматическая клетка обречена на смерть: дифференцированные клетки не дают потомков и нужны, по сути, лишь для того, чтобы поддержать жизнь клеток зародышевой линии, — единственной линии клеток, у которых есть шанс выжить (см. главу 21). В этом нет никакой загадки, ведь тело является, по существу, клоном оплодотворенной яйцеклетки, и геном соматических клеток идентичен геному клеток зародышевой линии, дающих начало спермиям и яйцеклеткам. Жертвуя собой ради клеток зародышевой линии, соматические клетки способствуют распространению своих собственных генов.

Таким образом, в отличие от свободноживущих клеток (например, бактерий), которые борются за выживание, клетки многоклеточного организма обречены на сотрудничество. Клетки согласовывают свое поведение с помощью огромного коли-

чества внеклеточных сигналов, которые они посылают друг другу, воспринимают, а затем интерпретируют. Эти сигналы действуют подобно *общественному контролю* и направляют действия каждой отдельной клетки (см. главу 15). В итоге каждая клетка ведет себя (то есть пребывает в покое, растет, делится, дифференцируется или умирает) сообразно нуждам целого организма. Нарушение этой гармонии может обернуться для многоклеточного сообщества большими проблемами. В человеческом теле, содержащем более 10^{14} клеток, каждый день миллиарды клеток претерпевают мутации, которые могут привести к выходу из-под общественного контроля. Наиболее опасны мутации, дающие одной из клеток селективное преимущество, позволяя ей расти и делиться более интенсивно, чем соседние клетки, и при этом легче выживать. Такая клетка может стать основательницей быстро растущего мутантного клона. Мутация, приведшая к такому эгоистическому поведению отдельных членов коллектива, может лишить будущего все предприятие. Со временем повторяющиеся циклы мутации, борьбы за существование и естественного отбора могут изменить ситуацию в худшую сторону. Это и есть рак: болезнь, при которой один клон мутантных клеток начинает благоденствовать за счет своих соседей, а затем потомки этих клеток угрожают всему многоклеточному сообществу.

В этом разделе мы рассмотрим развитие рака в виде микроэволюционного процесса. У человека этот процесс, ограничивающийся субпопуляцией клеток тела, занимает годы или десятки лет. Однако и он в конечном счете подчиняется все тем же принципам изменчивости и естественного отбора, которые управляют эволюцией живых организмов вот уже миллиарды лет.

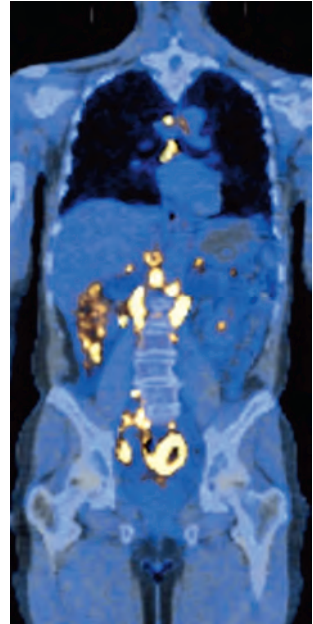
20.1.1. Раковые клетки неограниченно размножаются и внедряются в другие ткани

Раковые клетки определяются двумя наследуемыми качествами: 1) при размножении и росте они обходят ограничения, действующие на нормальные клетки, и 2) они вторгаются на участки с нормальными клетками и колонизируют их. Именно комбинация этих свойств делает раковые заболевания столь опасными. Аномальная клетка, бесконтрольно растущая (то есть увеличивающая свою массу) и пролиферирующая (делящаяся), дает начало опухоли, или *неоплазме* (буквально «вновь созданный»). До тех пор пока клетки новообразования остаются неинвазивными, опухоль считается **доброкачественной**, и полное излечение обычно достигается с помощью ее удаления или разрушения. Опухоль считается раковой, если она является **злокачественной**, то есть только в том случае, если ее клетки приобретают способность внедряться в окружающие ткани. Инвазивность — одна из основных характеристик раковых клеток. Она позволяет им покидать свою ткань, попадать в кровяное русло или лимфатические сосуды и образовывать по всему организму вторичные опухоли — **метастазы** (рис. 20.1). По мере распространения опухолевых клеток по организму излечение рака становится все более и более затруднительным, и обычно именно метастазы приводят к гибели пациента.

Раковые заболевания классифицируют по ткани и типу клеток, которые дали начало опухоли. **Карциномы**¹ — это раковые опухоли, возникшие из эпителиаль-

¹ Существуют различия при использовании термина «рак» в англоязычной и русскоязычной научно-медицинской литературе. В англоязычной под термином «рак» понимают все типы злокачественных опухолей; в русскоязычной — «рак» — это опухоли, возникшие из эпителия. Термин «карцинома» также употребляется в России для этого типа опухолей, но значительно реже. При русском переводе в тексте оставлено оригинальное использование термина «рак». — *Прим. ред.*

Рис. 20.1. Метастаз. Злокачественные опухоли метастазируют, из-за чего рак становится трудноизлечимым. Здесь приведены результаты сканирования всего тела пациента с метастатической неходжкинской лимфомой (non-Hodgkins lymphoma, NHL). Изображение получено при наложении результатов позитронной эмиссионной томографии (PET) на картинку, получающуюся при сканировании методом рентгеновской компьютерной томографии (КТ). Рентгеновская томография дает изображение тканей организма; метод PET позволяет выявить участки тела, поглощающие меченую радиоактивным фтором фтордезоксиглюкозу (FDG): в таких участках находится опухолевая ткань (желтый цвет). Высокий уровень поглощения FDG служит маркером опухолевых клеток, у которых метаболизм глюкозы необычайно интенсивен. Желтые точки в области живота — это множественные метастазы NHL. (С любезного разрешения S. Gambhir.)



ных клеток; на сегодняшний день карциномы являются наиболее распространенными раковыми опухолями у человека. **Саркомы** развиваются из соединительных или мышечных тканей. Раковые опухоли, которые не попадают в эти две большие категории, представляют собой разновидности **лейкоза** либо **лимфомы** и происходят из лейкоцитов и их предшественников (кроветворных клеток), а также раковые опухоли, развившиеся из клеток нервной системы. На **рис. 20.2** перечислены раковые заболевания, распространенные в США, а также данные по заболеваемости и смертности от этих форм рака. Каждая большая категория подвергается дальнейшему разделению согласно конкретному типу клетки, локализации в организме и микроскопическому строению опухоли.

Наряду с названиями злокачественных опухолей, выработана также терминология в отношении доброкачественных новообразований: например, аденома представляет собой доброкачественную эпителиальную опухоль в форме железы; соответствующий тип злокачественной опухоли носит название *аденокарциномы* (**рис. 20.3**). Аналогично, *хондрома* и *хондросаркома* являются соответственно злокачественной и доброкачественной опухолями хряща.

В большинстве случаев характерные черты раковой опухоли определяются тканью, в которой они возникли. Так, например, клетки *базалиомы* (*базально-клеточной карциномы*), ведущие происхождение от стволовых клеток-предшественников кератиноцитов кожи, как правило, продолжают синтезировать цитокератиновые промежуточные филаменты, а клетки *меланомы*, берущие начало от пигментных клеток кожи, часто (но не всегда) продолжают вырабатывать пигментные гранулы. Раковые опухоли, происходящие от клеток различных типов, как правило, приводят к различным заболеваниям. К примеру, базально-клеточные карциномы кожи инвазивны лишь локально и метастазируют в очень редких случаях, а меланомы могут стать намного более злокачественными и зачастую образуют метастазы (это отражает склонность к миграции у нормальных предшественников пигментных клеток, см главу 22). Базалиомы легко вылечиваются хирургическим путем или местным облучением, а злокачественные меланомы со множественными метастазами как правило, летальны.

Примерно 80% раковых заболеваний у человека составляют карциномы, возможно, потому, что пролиферация клеток у взрослого происходит в основном в эпи-

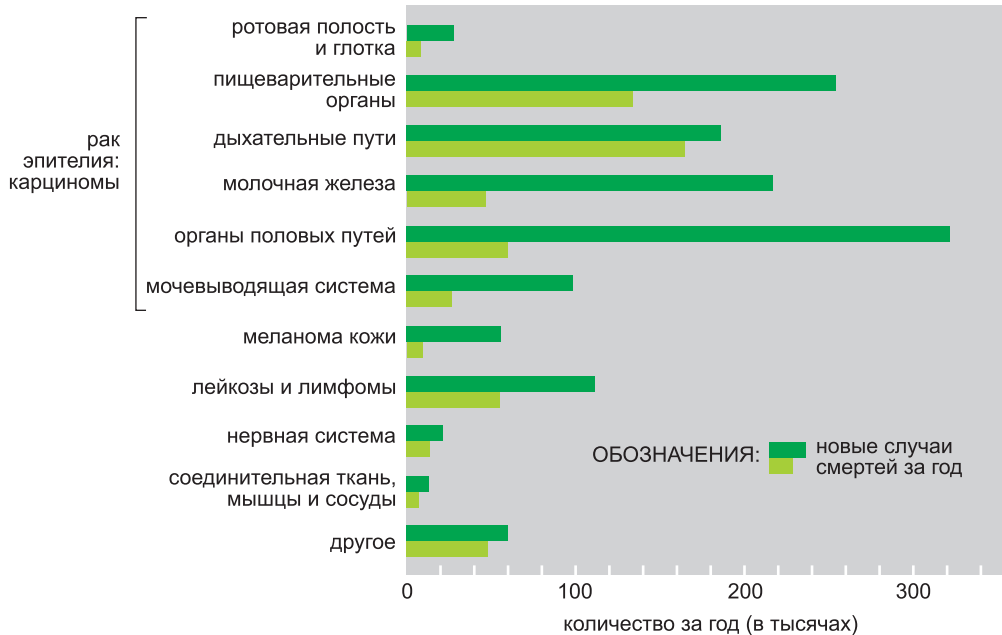


Рис. 20.2. Заболеваемость и смертность от рака в США. В 2004 г. в США этот диагноз поставили 1 368 030 раз, а общее количество смертей от рака составило 563 700. Обратите внимание, что людям, умершим от рака, диагноз установили в разное время и что от рака умирает чуть меньше половины больных. В мире наиболее распространены пять форм рака: рак легких, желудка, молочной железы, толстой/прямой кишки и шейки матки (на рисунке последний входит в группу рака половых путей), а число вновь зарегистрированных случаев рака в год составляет более 6 миллионов. Случаи рака кожи, не являющегося меланомой, не отображены на рисунке, поскольку чаще всего такие формы рака легко излечиваются и не регистрируются. (Данные заимствованы из American Cancer Society, Cancer Facts and Figures, 2004.)

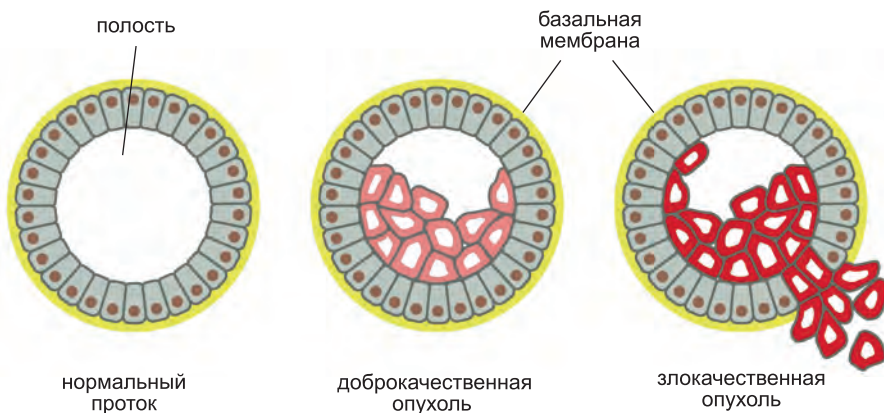


Рис. 20.3. Доброкачественная и злокачественная опухоли. Доброкачественная опухоль железы (аденома) не выходит за пределы структуры (в данном случае — протока), ограниченной в норме базальной мембраной. Злокачественная опухоль железы (аденокарцинома), как показано, нарушает целостность протока. Форма опухоли может быть различной.

телиальных клетках, либо из-за того, что эти ткани наиболее часто подвергаются различным физическим и химическим воздействиям, способствующим появлению раковой опухоли.

20.1.2. В большинстве случаев рак развивается из одной аномальной клетки

Даже при наличии метастазов мы, как правило, можем свести происхождение всех раковых клеток к одной **первичной опухоли**, возникшей в каком-то конкретном органе. Считается, что первичная опухоль берет свое начало от единственной клетки, претерпевшей в какой-то момент генетическое изменение. С этого момента потомки этой клетки накапливали изменения, позволяющие им расти, делиться и просто жить за счет своих соседей. Как правило, при первом обнаружении рака, опухоль уже развивалась в течение нескольких лет, и в организме пациента насчитывается не менее миллиарда клеток. (рис. 20.4). В состав опухоли входит, как правило, множество других клеток, например фибробласты соединительной ткани, поддерживающей опухоль; клетки воспаления; и др. Но как можно убедиться в том, что раковые клетки произошли от одной аномальной клетки?

Молекулярный анализ хромосом опухолевых клеток ясно свидетельствует, что все они — из одного клона. Например, практически у всех пациентов с *хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ)* все лейкозные клетки имеют характерную хромосомную аномалию, так называемую *филадельфийскую хромосому*, возникшую в результате транслокации между длинными плечами 9 и 22 хромосом (рис. 20.5). Результаты секвенирования ДНК в точке транслокации показали, что сайт разрезания и рекомбинации транслоцированных фрагментов у одного и того же пациента идентичен во всех лейкозных клетках, однако этот сайт несколько смещен (от нескольких сот до тысячи п.н.) у разных пациентов. Такой результат можно ожидать в том и только том случае, если все раковые клетки пациента произошли от единственной клетки, в которой произошло уникальное случайное изменение. Далее мы покажем, что подобная транслокация способствует развитию ХМЛ благодаря образованию нового гибридного гена, кодирующего белок, запускаящий деление клетки.

Многие исследования рака сходятся в одном: в большинстве случаев раковая опухоль ведет свое происхождение от одной аномальной клетки (рис. 20.6).

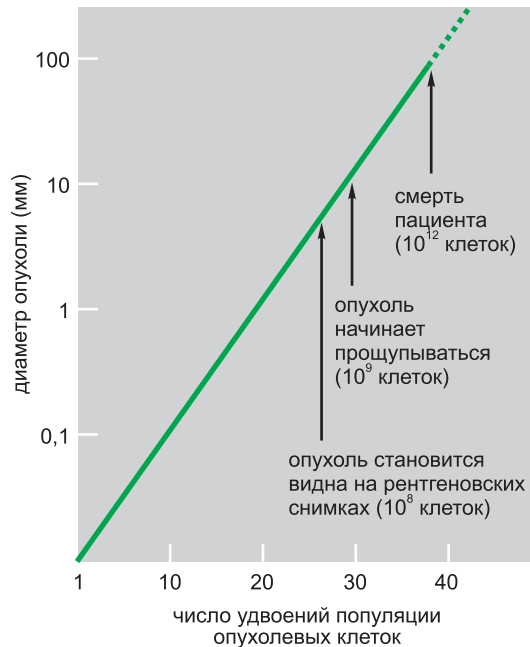


Рис. 20.4. Динамика увеличения размера типичной опухоли у человека (например, опухоли молочной железы). Диаметр опухоли дан в логарифмической шкале. Прежде чем опухоль станет заметной, могут пройти годы. Число клеток в типичной опухоли молочной железы удваивается примерно каждые 100 дней.

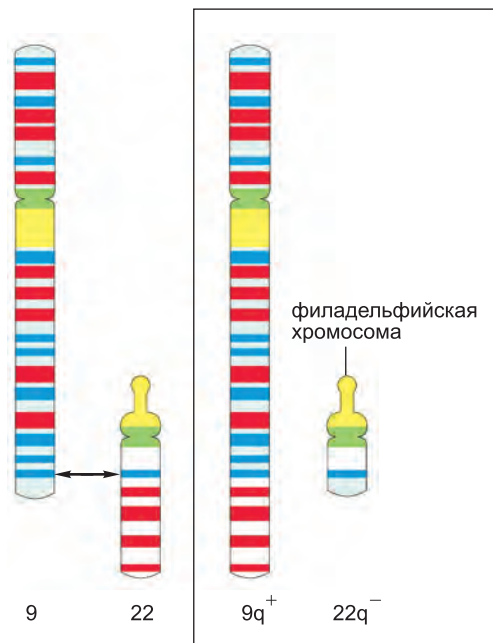


Рис. 20.5. Транслокация между хромосомами 9 и 22, вызывающая хронический миелоидный лейкоз. Нормальные хромосомы изображены слева. Справа нарисованы хромосомы, между которыми произошла транслокация в указанном сайте. Меньшая из двух дефектных хромосом (22q⁻) носит название филадельфийской — по названию города, в котором впервые зарегистрировали такое нарушение.

20.1.3. Раковые клетки содержат соматические мутации

Чтобы аномальная клетка дала начало опухоли, она должна передать свои аномальные свойства потомкам, то есть отклонения должны быть наследственными. Одна из задач при исследовании рака — понять, являются ли изменения генетическими (затрагивающими последовательность ДНК) или *эпигенетическими* (при которых меняется характер экспрессии генов, но не последовательность нуклеотидов ДНК).

Эпигенетические изменения в норме ответственны за устойчивость дифференцированного состояния, а также лежат в основе таких явлений, как инактивация X-хромосомы и геномный импринтинг (см. главу 7). Как мы отметим далее, эпигенетические изменения играют важную роль в развитии ракового заболевания.

Несомненно, однако, что в развитии клона раковых клеток также участвуют генетические изменения. Можно показать, как в примере с ХМЛ, что раковые клетки многих типов несут в себе одну или несколько аномалий последовательности



Рис. 20.6. Данные об инактивации X-хромосом доказывают моноклональное происхождение раковой опухоли. а) Случайная инактивация X-хромосом в клетках эмбриона на ранней стадии развития приводит к тому, что тело женщины состоит из клеток, в которых инактивирована либо одна, либо другая хромосома (здесь эти клетки показаны красным и синим). б) При определении экспрессии X-хромосомного гена-маркера в раковых клетках (кодирующего особую форму фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы G6PD) оказывается, что в них, как правило, инактивирована одна и та же X-хромосома. Это отражено на рисунке (в). Это свидетельствует о том, что все они произошли от одной первичной раковой клетки.

ДНК, отличающих их от нормальных клеток, окружающих опухоль. Усовершенствования методов анализа ДНК позволяют идентифицировать эти генетические отклонения во всех новых видах рака. Это согласуется с тем, что многие канцерогенные факторы вызывают генетические изменения. Таким образом, **канцерогенез** (развитие ракового заболевания) связан с *мутагенезом* (внесением изменений в последовательность ДНК). Такая корреляция особенно четко прослеживается в случае **химических канцерогенов** (вносящих, как правило, простые локальные изменения) и *радиации*, например рентгеновского (вызывающего обычно фрагментацию хромосом и транслокации) либо ультрафиолетового излучения (специфически модифицирующего основания ДНК). Позже мы обсудим эти канцерогенные факторы более подробно.

Вывод о том, что в развитии рака играют роль соматические мутации, подтверждается данными о том, что люди с наследственным нарушением одного из механизмов репарации ДНК, приводящим к ускоренному накоплению мутаций в клетках, имеют сильную предрасположенность к раковым заболеваниям. Например, у людей с заболеванием *пигментная ксеродерма* нарушена система репарации ДНК после воздействия ультрафиолетового света, а также среди них гораздо выше заболеваемость раком кожи. Аналогично, мыши, у которых отсутствуют некоторые гены репарационной системы, сильно подвержены раковым опухолям.

20.1.4. Одной мутации недостаточно, чтобы вызвать рак

За всю жизнь в теле человека происходит, по некоторым оценкам, порядка 10^{16} клеточных делений; у мышей, состоящих из меньшего количества клеток и живущих не столь долго, это число составляет около 10^{12} . Даже при отсутствии в среде мутагенов мутации спонтанно происходили бы с частотой около 10^{-6} мутаций в одном гене за одно клеточное деление. Это значение определяют фундаментальные ограничения точности репликации и репарации ДНК (см. [стр. 439](#)). То есть за среднее время жизни каждый ген мутировал бы примерно 10^{10} раз у человека и примерно 10^6 раз у мыши. Среди мутантных клеток мы могли бы ожидать большое количество клеток с повреждающими (пагубными) мутациями генов, регулирующих рост и деление, и приобретающими возможность пролиферировать в обход обычных ограничений. С этой точки зрения вопрос не в том, почему возникают раковые клетки, а почему они возникают столь редко.

Очевидно, что, если бы единственной мутации было достаточно, чтобы превратить здоровую клетку в неограниченно пролиферирующую раковую клетку, мы были бы нежизнеспособны. Несколькими способами доказано, что для возникновения раковой опухоли необходимо довольно много независимых друг от друга мутаций, происходящих в клетках одного клона, а это редкие события. С одной стороны, это доказывают эпидемиологические данные о заболеваемости раком в зависимости от возраста ([рис. 20.7](#)). Если бы за развитие раковой опухоли отвечала одна мутация, происходящая с какой-то фиксированной вероятностью за год, то годовой риск заболеть раком не зависел бы от возраста. На самом деле для большинства видов рака заболеваемость с возрастом резко возрастает. Этот результат вполне ожидаем в том случае, если рак обусловлен накоплением случайных мутаций в одном клоне клеток.

Теперь, когда известны многие конкретные мутации, ответственные за развитие раковой опухоли, у нас есть возможность напрямую проверять геном раковой клетки на наличие этих мутаций. Данные таких тестов говорят о том, что клетки злокачественных опухолей человека, как правило, несут в своем геноме множество мута-

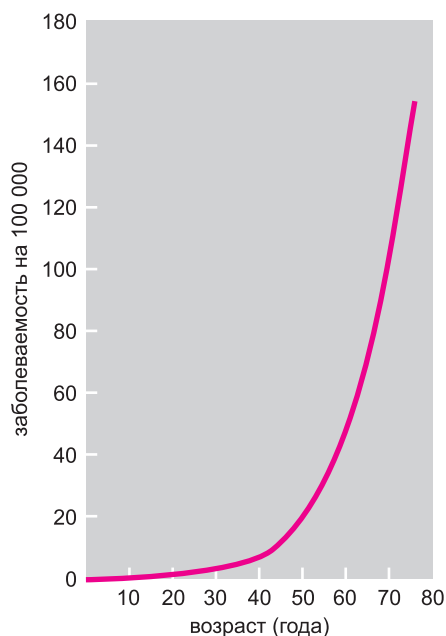


Рис. 20.7. Возрастная зависимость заболеваемости раком. Приведено число поставленных диагнозов рака толстой кишки в год у женщин в Англии и Уэльсе в зависимости от их возраста на момент постановки диагноза. Цифры нормированы на общее число представителей данной возрастной категории. Заболеваемость раком с возрастом постоянно растет. Если бы для образования раковой опухоли требовалась лишь одна мутация, причем мутация могла равновероятно произойти в любой момент, то заболеваемость не зависела бы от возраста. (Данные заимствованы из книги С. Muir et al., *Cancer Incidence in Five Continents, Vol. V*. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1987.)

ций. Модельные эксперименты на животных подтверждают, что единственное генетическое изменение не способно вызвать рак: генетически модифицированные мыши, содержащие в геноме одну мутацию, ответственную за развитие рака, заболевают раком только спустя месяцы, а опухолевые клетки представлены небольшим числом аномальных клеток по всему организму.

Это говорит о том, что для развития рака необходимы дополнительные генетические изменения. Более того, генетически модифицированные мыши с двумя канцерогенными мутациями заболевают раком быстрее, чем мыши с одной мутацией, что свидетельствует о том, что генетические изменения в одной клетке могут усиливать действие друг друга, способствуя росту раковых клеток и развитию опухоли.

20.1.5. Раковые клетки постепенно накапливают аномалии

Те виды рака, которые вызываются конкретным внешним фактором, обычно не проявляются в течение долгого времени с момента воздействия. Например, заболеваемость раком легких начинает расти лишь после 20 лет интенсивного курения. Аналогично заболеваемость лейкозом в Хиросиме и Нагасаки не повышалась в течение 5 лет после взрыва атомных бомб, а рабочие, подвергавшиеся в течение ограниченного периода воздействию химических канцерогенов, не заболевали формой рака, характерной для их отрасли, через 10, 20 и более лет после воздействия (**рис. 20.8**). В течение долгого инкубационного периода будущие раковые клетки претерпевают ряд генетических и эпигенетических изменений. То же самое, судя по всему, относится к тем видам рака, для которых нельзя указать явную внешнюю причину.

Концепция необходимости постепенного накопления мутаций в нескольких генах (разных для разных видов рака) помогает понять явление **опухолевой прогрессии** (принятый термин), при котором из клетки с изначально легкими расстройствами поведения развивается злокачественная опухоль. Один из ярких примеров представляет собой хронический миелоидный лейкоз. Сначала он характеризуется нелетальным избыточным количеством лейкоцитов и протекает в такой форме несколько лет, пока не сменяется более острой болезнью, быстро развивающейся и приводящей к смерти в течение нескольких месяцев. В ранней, хронической, фазе лейкозные клетки можно определить по присутствию в них хромосомной транс-

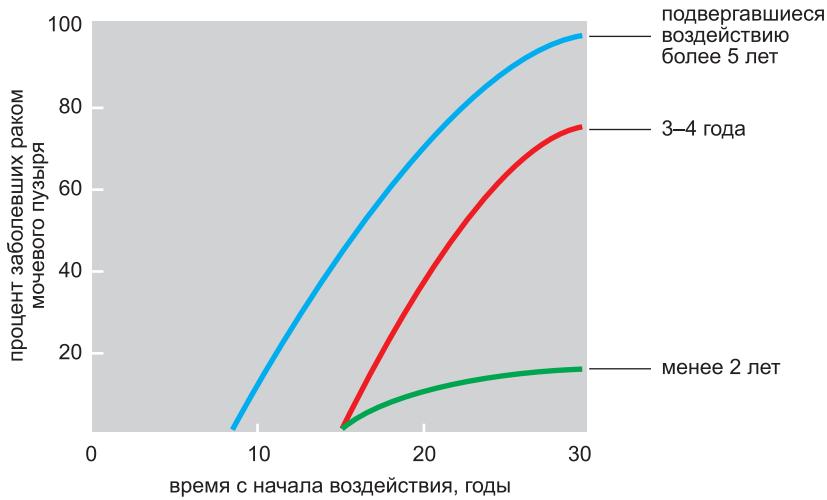


Рис. 20.8. Задержка между началом канцерогенного воздействия и заболеванием раком. На графике представлены данные по заболеваемости раком мочевого пузыря у 78 работников химической фабрики, подвергшихся воздействию канцерогена 2-нафтиламина. Пациенты сгруппированы по длительности испытанного ими воздействия. (С изменениями из J. Cairns, *Cancer: Science and Society*. San Francisco: W. H. Freeman, 1978. По М. Н. С. Williams, in *Cancer*, Vol. III [R. W. Raven, ed.]. London: Butterworth Heinemann, 1958.)

локации (филадельфийской хромосомы), о которой мы недавно говорили, хотя их могут отличать и не столь заметные генетические и эпигенетические изменения. В последующей острой фазе клетки со многими хромосомными аномалиями заполняют всю кроветворную систему. Клетки начального мутантного клона претерпевают дальнейшие мутации, заставляющие их пролиферировать еще интенсивнее, и они начинают численно превосходить не только нормальные клетки крови, но и своих предшественников с одной лишь хромосомной транслокацией.

Считается, что карциномы и другие солидные опухоли возникают аналогичным путем. Хотя многие виды рака у человека не диагностируются вплоть до относительно поздних стадий, в некоторых случаях можно заметить их и раньше. Например, в случае рака шейки матки это возможно благодаря профилактическому скринингу клеток соответствующего мазка.

20.1.6. Рак шейки матки можно предотвратить с помощью ранней диагностики

Выстилка шейки матки изначально представляет собой многослойный плоский эпителий (см. **рис. 20.9, a**), аналогичный по структуре эпидермису кожи (см. **рис. 23.3**). В таком многослойном эпителии пролиферируют лишь клетки базального слоя. Вновь возникающие клетки продвигаются к поверхности, дифференцируясь в плоские, богатые кератином клетки, которые в конце концов слущиваются с поверхности эпителия. Однако довольно часто при исследовании цервикального эпителия у разных женщин можно обнаружить нарушения его организации, которые могут свидетельствовать о начале превращения в раковую опухоль. Такие нарушения носят названия *интра-эпителиальной неоплазии* и подразделяются на неоплазии низкой (легкая форма) и высокой (средняя и тяжелая формы) степени злокачественности.

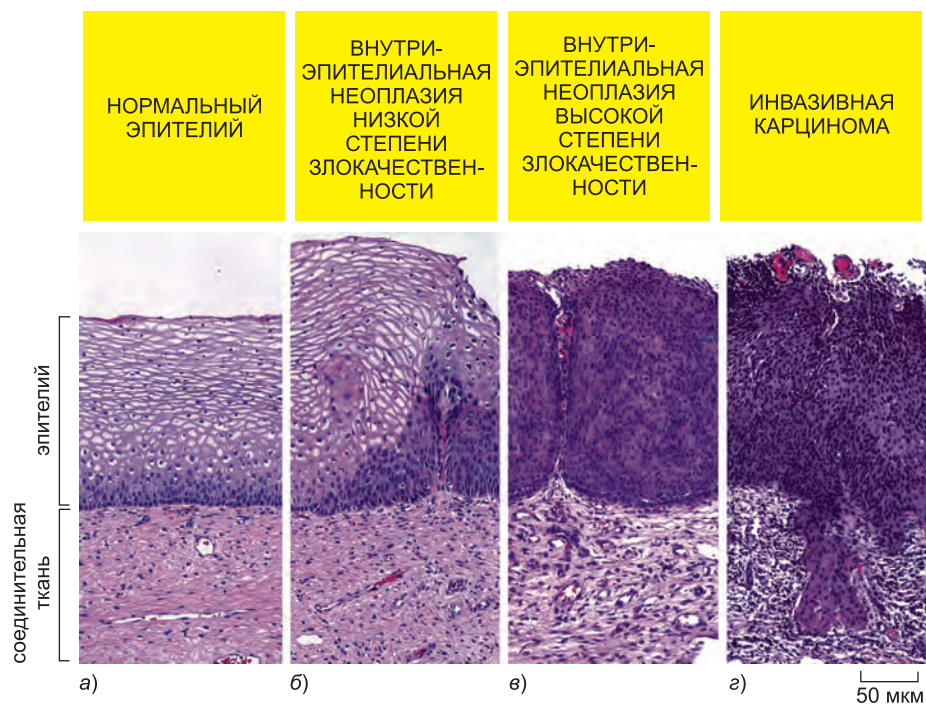


Рис. 20.9. Стадии прогрессии рака эпителия шейки матки. При классификации наблюдаемых нарушений патологи пользуются стандартной терминологией, позволяющей адекватно выбрать метод лечения. а) В норме делящиеся клетки многослойного плоского эпителия не выходят за базальную мембрану. б) В случае внутриэпителиальной неоплазии низкой степени злокачественности делящиеся клетки обнаруживаются в нижней трети эпителия; поверхностные клетки все еще имеют уплощенную форму и проявляют признаки дифференцированности, хотя и неполной. в) При внутриэпителиальной неоплазии высокой степени злокачественности клетки во всех слоях эпителия пролиферируют и оказываются плохо дифференцированными. з) Настоящая злокачественная опухоль возникает после того, как проходит через базальную мембрану эпителия или разрушает ее, внедряясь в окружающие ткани. (Фотографии любезно предоставлены Andrew J. Connolly.)

В случае нарушений низкой степени злокачественности недифференцированные делящиеся клетки не ограничиваются базальным слоем, а встречаются также в других слоях нижней трети эпителия; это вносит некоторый беспорядок, хотя в более высоких слоях дифференцированность сохраняется (рис. 20.9, б). Предоставленные сами себе, такие отклонения самоустраиваются, однако в 10% случаев они перерастают в нарушения высокой степени злокачественности, при которых все или несколько эпителиальных слоев заняты недифференцированными делящимися клетками, сильно варьирующими по размеру и форме. Часто наблюдаются аномальные митотические структуры, а *кариотип* (то есть видимый в микроскоп полный набор хромосом) таких клеток обычно характеризуется наличием отклонений. Однако аномальные клетки все еще сдерживаются базальным слоем (рис. 20.9, в). На этой стадии заболевание легко вылечивается с помощью разрушения или хирургического удаления опухолевой ткани. К счастью, наличие таких нарушений можно диагностировать, просто взяв мазок с поверхности шейки матки и рассмотрев клетки этого мазка под микроскопом (рис. 20.10). Многим это спасает жизнь.

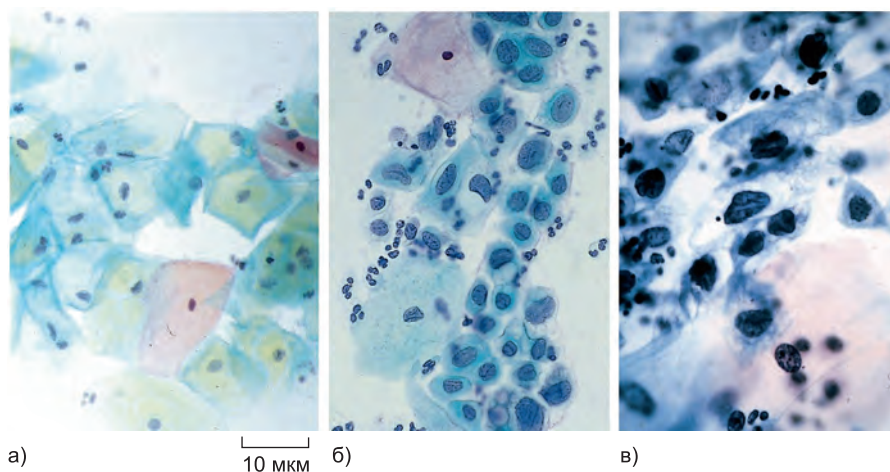


Рис. 20.10. Клетки мазка из шейки матки (мазок Папаниколау). *а)* Норма: клетки большие, хорошо дифференцированные, содержимое их ядер сильно конденсировано. *б)* Предраковое состояние: степень дифференцированности и доля пролиферирующих клеток не соответствуют норме, но инвазии нет; обнаруживаются клетки на разных стадиях дифференцировки, в том числе совершенно незрелые. *в)* Инвазивная карцинома: все клетки недифференцированные, содержат мало цитоплазмы и относительно большие ядра. На всех трех препаратах в дебрисе содержится некоторое количество лейкоцитов. (С любезного разрешения Winifred Gray.)

В отсутствие лечения участок ткани с нарушениями может просто существовать, не прогрессируя и даже медленно рассасываясь. Однако по меньшей мере в 30–40% случаев опухоль прогрессирует, превращаясь через несколько лет в явную инвазивную карциному (см. рис. 20.2, *з*): раковые клетки проходят сквозь базальную мембрану или разрушают ее, внедряются в подстилающую ткань, и могут метастазировать по лимфатическому сосуду в лимфатический узел. С распространением инвазивных новообразований по организму хирургическое лечение становится все сложнее.

20.1.7. Процесс прогрессирования опухоли состоит из последовательных циклов наследственных изменений, сопровождаемых естественным отбором

Все экспериментальные данные говорят о том, что в процессе развития рака начальная популяция клеток с небольшими нарушениями — потомков одного аномального предшественника — отклоняется от нормального развития все дальше и дальше, претерпевая циклические наследственные изменения, сопровождаемые естественным отбором. В ходе каждого цикла в клетке происходит новое генетическое или эпигенетическое изменение, дающее ей эволюционное преимущество и позволяющее ей процветать в окружении других клеток. При этом внутри опухоли могут создаваться довольно жесткие условия: плохое снабжение кислородом, питательными веществами и естественные препятствия для роста, образованные окружающими нормальными тканями. Потомство наиболее приспособленной клетки продолжает размножаться, захватывая, в конце концов, все пространство опухоли и становясь доминирующим клоном в ней (рис. 20.11). Периодически рост опухоли ускоряется, когда происходит очередное изменение, дающее преимущество, и клетки, обладающие им, начинают активно раз-

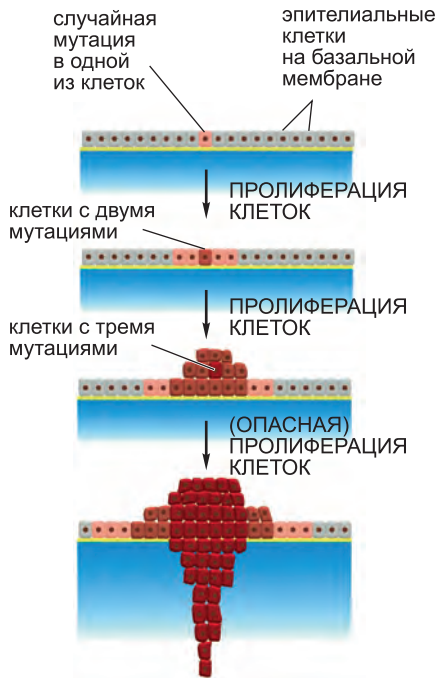


Рис. 20.11. Эволюция клона. На этой диаграмме развитие опухоли представлено как последовательность чередующихся мутаций и пролиферации, приводящей к появлению клона злокачественной раковой клетки. На каждом этапе в одной из клеток происходит мутация, в результате которой либо повышается скорость пролиферации, либо снижается вероятность смерти клетки, так что ее потомки получают преимущество. Множественные деления клеток-клонов ускоряют наступление следующей стадии развития опухоли, поскольку увеличивают риск возникновения новой мутации. Последняя из показанных здесь стадий, а именно проникновение через базальную мембрану, является первым этапом метастазирования. В действительности стадий гораздо больше, и в процессе участвуют как генетические, так и эпигенетические изменения.

множаться. Прогрессия опухоли — процесс вероятностный, обычно ее развитие занимает многие годы — поэтому большинство из нас умирает не от рака, а от других обстоятельств.

Почему же необходимо так много изменений? У многоклеточных организмов, очевидно, выработалась сложная система механизмов регуляции,

позволяющая держать клетки под контролем. Без подобных механизмов управления неизбежные нарушения в ДНК стали бы причиной многочисленных опухолей уже в самом начале жизни и разрушили бы любой многоклеточный организм, сколь бы он ни был велик. Таким образом, не приходится удивляться тому, что в клетках действуют многочисленные механизмы регуляции, помогающие строго контролировать их поведение, и перед тем как клетка сможет избавиться от сдерживающих ее ограничений и начнет вести себя подобно антиобщественному элементу, должны быть сломаны многие регуляторные структуры. Ограничения очень разнообразны, и на каждой стадии эволюции перед опухолевыми клетками встают новые препятствия. Например, снабжение кислородом и питательными веществами не лимитирует рост, пока диаметр опухоли не достигнет одного-двух миллиметров. С этого момента клетки внутри опухоли могут испытывать недостаток этих важнейших ресурсов. Для преодоления каждого нового барьера — физического или физиологического — клеткам требуются дополнительные мутации и/или эпигенетические изменения.

В целом, скорость эволюции любой популяции организмов на Земле должна зависеть от четырех параметров: (1) от *скорости мутирования*, то есть вероятности того, что любой заданный представитель популяции претерпит генетическое изменение, в расчете на ген и на единицу времени; (2) от *числа половозрелых особей* в популяции; (3) от *скорости размножения*, то есть от среднего количества поколений потомства, производимого в единицу времени; и (4) от *селективного преимущества* мутантных особей, то есть отношения размера выжившего фертильного потомства этих особей к размеру выжившего фертильного потомства немутировавших особей. Аналогичные факторы влияют на эволюцию раковых клеток многоклеточных организмов, за исключением того, что в этом случае эволюционным процессом управляют как генетические, так и эпигенетические изменения.

20.1.8. Эпигенетические изменения, происходящие в раковых клетках, включают наследуемые хроматиновые структуры и метилирование ДНК

Как только что упомянуто, прогрессирование рака имеет важное отличие от обычной биологической эволюции: здесь играют роль также и эпигенетические изменения, дающие клеткам преимущество при отборе.

В течение многих лет патологи идентифицировали и классифицировали раковые клетки образца опухоли по тому, как выглядит их ядро. Иногда, например, раковые клетки содержат большое количество гетерохроматина — конденсированной формы ДНК, характерной для метафазы митоза. Гены в такой конденсированной форме молчат (см. [стр. 399](#)). Теперь мы понимаем некоторые механизмы формирования хроматина и можем сопоставить образование гетерохроматина со специфическим сайленсингом («замалчиванием») конкретных генов, которые, будучи активными, блокируют развитие опухоли.

Процесс образования хроматина включает специфическую модификацию гистонов, что, в свою очередь, привлекает белковые хроматин-связывающие комплексы, постоянно присутствующие в местах репликации ДНК (см. главу 4). Таким образом, можно заставить молчать ген, не изменяя последовательность ДНК, и такая модификация будет передаваться от материнской клетки дочерним. Подобная эпигенетическая регуляция генов играет большую роль в процессах дифференцировки клеток, особенно при эмбриональном развитии (см. главу 22). Ошибки в таком процессе могут быть опасными, так как они передаются от клетки к клетке.

Теперь мы знаем, что многие мутации, ответственные за превращение клеток в раковые, изменяют свойства белков, определяющих хроматиновые структуры. Это не только ферменты, модифицирующие гистоны в нуклеосомах, но также комплексы, считывающие и интерпретирующие гистоновый код (см. [рис. 4.43](#)). Эти наблюдения доказывают большое значение модификации хроматина в прогрессировании опухоли.

При нормальном развитии, наряду с упаковкой генов в гетерохроматин, происходит метилирование ДНК (см. [стр. 758](#)). Такая модификация также наследуется от клетки к клетке. Исследования показывают, что при развитии опухоли некоторые гены в значительной степени метилируются. Относительно недавно было установлено, что при прогрессировании большинства раковых опухолей аномальные эпигенетические изменения не менее важны, чем мутации последовательности ДНК ([рис. 20.12](#)).

20.1.9. Клетки рака человека генетически нестабильны

Большинство раковых клеток накапливает генетические изменения аномально быстро; такие клетки называются **генетически нестабильными**. Такая нестабильность может принимать различные формы. Некоторые раковые клетки неспособны к репарации определенных видов повреждений ДНК или к исправлению ошибок при репликации. Эти клетки, как правило, накапливают больше точечных мутаций или других изменений последовательности ДНК, чем нормальные клетки. Другие раковые клетки не могут поддерживать постоянное число хромосом или их целостность, поэтому накапливают сильные нарушения кариотипа, видимые в микроскоп при митозе ([рис. 20.13](#)). Генетическая нестабильность увеличивается в тех случаях, когда изменение последовательности ДНК влечет за собой нарушение эпигенетического

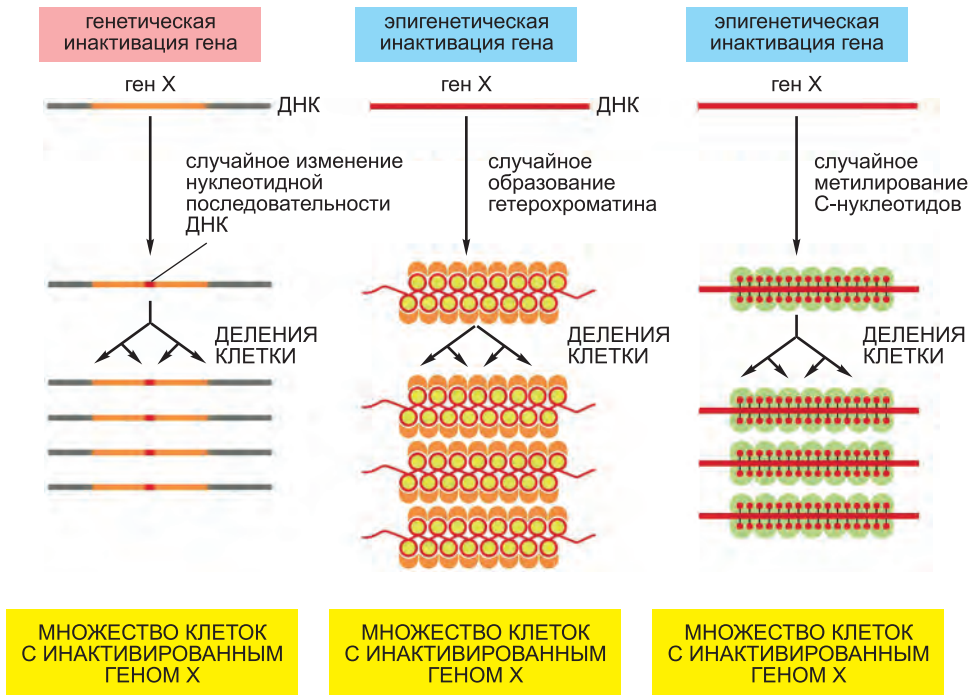


Рис. 20.12. Сравнение генетических и эпигенетических изменений в опухолевых клетках. Мутации происходят в результате необратимого изменения последовательности ДНК. В отличие от таких генетических изменений, эпигенетические модификации, хотя и передаются от материнской клетки к дочерним, могут быть отменены с помощью сайт-специфической модификации гистонов либо сайт-специфическим деметилированием ДНК. Поскольку эпигенетические модификации генов, как правило, не сохраняются при образовании яйцеклеток и сперматозоидов, они не передаются из поколения в поколение и поэтому их не столь интенсивно исследовали генетики. Считают (см. главу 7), что метилирование ДНК (а именно: передающегося по наследству паттерна метилирования цитозинов в CpG-динуклеотидах) используется, чтобы не дать генам, экспрессия которых уже была заблокирована, начать экспрессироваться вновь. Судя по всему, в норме метилирование ДНК происходит вслед за образованием гетерохроматина. Однако нарушения регуляции при развитии опухоли могут привести, как здесь отобразено, к подавлению экспрессии генов независимо от гетерохроматинизации.

контроля, что приводит к образованию избыточного количества гетерохроматина и к аномально высокому уровню метилированности ДНК. Сами по себе эпигенетические модификации, возникая случайно и независимо от предшествующих генетических изменений, также могут приводить к дестабилизации генома, способствуя новым изменениям на генетическом и эпигенетическом уровнях. С точки зрения эволюции это отнюдь не удивительно: всякое изменение, передающееся от одного поколения следующему и увеличивающее вероятность случайного изменения функции гена, ускоряет превращение клеток в злокачественную форму.

Эпигенетические изменения описаны не столь подробно, как генетические. Различные опухоли, даже принадлежащие к одной и той же ткани, могут отражать различные формы генетической нестабильности, вызванные наследственными изменениями в каком-либо из так называемых *генов поддержания стабильности*

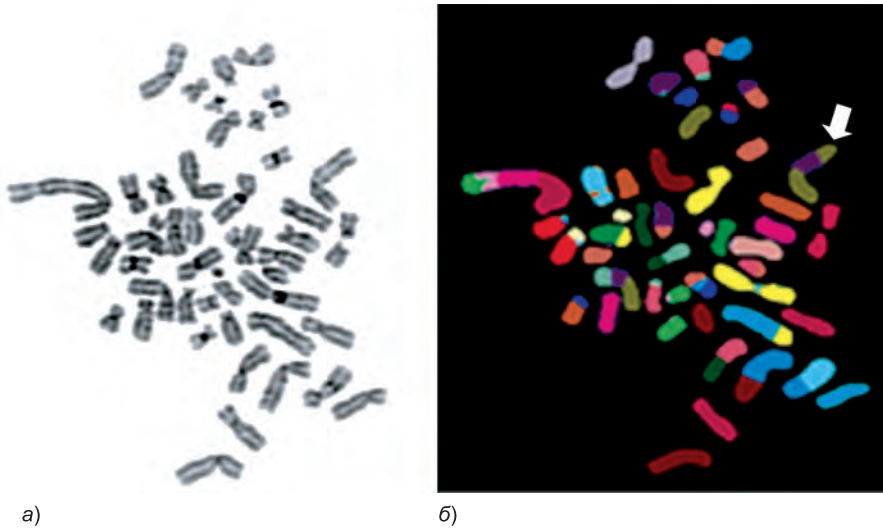


Рис. 20.13. Отклонения в количестве и структуре хромосом из клеток рака молочной железы. Хромосомы выделены из клеток рака молочной железы на стадии метафазы, помещены на предметное стекло и окрашены (а) обычным красителем на ДНК и (б) набором флуоресцентных красителей, каждый из которых окрашивает в свой цвет одну хромосому из нормального набора хромосом человека. Окраска (цвета изменены) выявила многочисленные транслокации, включая двойные (отмечена белой стрелкой): хромосома с такой транслокацией состоит из двух фрагментов хромосомы 8 (коричневый цвет) и одного фрагмента хромосомы 17 (фиолетовый цвет). Кроме того, в кариотипе содержатся 48 хромосом, а не 46, как в нормальных клетках. (С любезного разрешения Joanne Davidson and Paul Edwards.)

ДНК, участвующих в размножении ДНК или хромосом. У людей такие мутации редки, однако носитель этой мутации имеет повышенную вероятность заболеть раком. Это подтверждает, что генетическая нестабильность может стать причиной рака. Как правило, такие мутации не наследуются, а возникают *de novo* в клетках опухоли, помогая им накапливать мутации гораздо быстрее своих соседей. Согласно недавним оценкам, в различных раковых клетках у человека замена одного нуклеотида происходит в 10–20 раз чаще, чем у нормальных клеток. Секвенирование более чем 10 000 генов злокачественных клеток в нескольких случаях рака молочной железы, а также толстой и прямой кишки, показало, что накопленных этими клетками мутаций достаточно, чтобы изменить последовательность аминокислот в белках, кодируемых примерно 100 генами. Большинство из этих мутаций представляют собой случайные изменения, у разных опухолей затрагивающие разные гены. Однако обнаружены и мутации, встречающиеся во всех опухолях данного типа; из этого можно заключить, что для прогрессирования опухоли необходимы изменения не менее чем в 20 определенных генах.

Сама по себе генетическая нестабильность не дает селективного преимущества. Вероятно, существует некоторый оптимальный уровень генетической нестабильности, при котором клетка достаточно быстро накапливает мутации, но не успевает накопить слишком много вредных изменений, приводящих к ее гибели. Чтобы успешно пройти отбор, генетически нестабильная клетка должна приобрести свойства, обеспечивающие преимущества в борьбе.

20.1.10. Рост раковой опухоли часто происходит из-за нарушенной регуляции клеточной смерти и/или деления клеток

Вероятность заболеть раком повышается как при увеличении скорости возникновения мутаций в клетке, так и при действии любого фактора, увеличивающего количество пролиферирующих клеток, способных стать мутантными. Так, люди, страдающие ожирением, подвержены различным раковым заболеваниям в гораздо большей степени, чем люди с нормальным весом. Отчасти это, вероятно, связано с тем, что в их организме больше клеток и что в условиях избытка питательных веществ и факторов роста эти клетки делятся гораздо чаще. Те же принципы действуют при инициации и прогрессировании рака: чем многочисленнее клон клеток, произошедших от клетки с генетическим нарушением, тем больше вероятность того, что в одной из клеток клона произойдет дополнительная мутация или эпигенетическое изменение, способное привести к развитию рака. Таким образом, на каждой стадии развития рака любой фактор, способствующий повышению числа генетически (эпигенетически) измененных клеток, стимулирует прогрессирование опухоли.

Как мы подробно обсудим далее, ранняя генетическая или эпигенетическая модификация вызывает такой эффект из-за увеличения скорости пролиферации клеток клона. Однако такие изменения не являются единственным и самым важным механизмом увеличения числа клеток. В нормальных тканях взрослого, особенно тех, что подвержены образованию опухолей, клетки могут делиться непрерывно; однако их количество остается постоянным, поскольку деление уравнивается гибелью клеток. Это является одним из нормальных механизмов поддержания гомеостаза. Программируемая клеточная смерть путем *апоптоза* играет в этом важнейшую роль (см. главы 18 и 23). Если число клеток слишком велико, уровень апоптоза увеличится и уничтожит излишек. Одной из важных характеристик многих раковых клеток является то, что они не способны к апоптозу, как нормальные клетки. Это в значительной степени способствует росту опухоли (**рис. 20.14**).

Наследственные изменения также могут увеличивать размер клона мутантных клеток, изменяя их способность к дифференцировке; это показано выше на примере рака шейки матки. После деления стволовой клетки базального слоя дочерняя клетка встает перед выбором: остаться ли ей стволовой или вступить на путь дифференцировки. Клетки, избравшие второе, сначала пролиферируют (на этой стадии они называются *транзиторными стволовыми или амплифицирующимися клетками*) (принятые в России термины), а затем прекращают делиться и наконец дифференцируются. Если на какой-либо стадии программа дифференцировки блокируется, то накапливающиеся пролиферирующие клетки способствуют прогрессированию опухоли от низкой степени злокачественности к высокой и в конце концов — к раковой опухоли (см. рис. 20.9). Те же события происходят и в случае других раковых опухолей, развивающихся в тканях, важную роль в которых играют стволовые клетки. К таким тканям относятся кожа, выстилка кишечника и кровяная система. Некоторые формы лейкоза, например, обусловлены нарушением программы дифференцировки, при котором клетка, вступившая на путь дифференцировки и обреченная погибнуть спустя несколько циклов деления, вдруг приобретает способность к неограниченному делению (см. главу 23).

Таким образом, накопление мутаций и эпигенетических изменений, приводящих к нарушению регуляции деления, апоптоза и дифференцировки, могут вносить вклад в развитие и прогрессирование раковых опухолей.

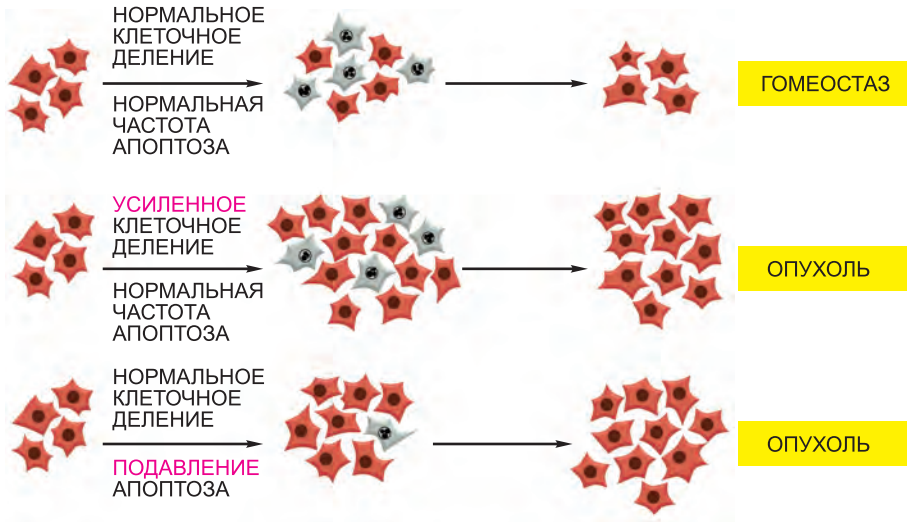


Рис. 20.14. К образованию опухоли может приводить как увеличенная частота клеточного деления, так и пониженная частота апоптоза. В нормальных тканях число клеток постоянно, так как их деление уравнивает апоптоз. Увеличение числа клеток, приводящее к образованию опухоли, может происходить как в результате повышения скорости клеточного деления, так и в результате подавления апоптоза. Клетки, которые должны претерпеть апоптоз, выделены *серым*.

20.1.11. Раковые клетки обычно по-другому реагируют на повреждения ДНК и другие стрессовые воздействия

Как только что обсуждалось, многие нормальные клетки, дифференцировавшись в специализированный тип, перестают делиться. Однако не только это может вызвать остановку пролиферации; клетки могут перестать делиться в ответ на стрессовое воздействие или повреждение их ДНК. Как описано в главе 17, у нормальных клеток имеются механизмы контроля на нескольких уровнях. Эти механизмы приостанавливают клеточный цикл, когда что-то идет не так; таким образом выигрывается время, необходимое для исправления ошибки. Фрагментация хромосом и другие повреждения ДНК генерируют внутриклеточные сигналы, активирующие механизмы проверки, заставляя клетку прервать цикл воспроизводства, чтобы дать ей шанс исправить ситуацию до попытки деления. И если с повреждением справиться невозможно, то нормальная клетка, вместо того чтобы давать потомство с поврежденным геномом, навсегда выходит из клеточного цикла либо самоуничтожается путем апоптоза.

Генетические и эпигенетические изменения, характерные для раковых клеток, как правило, заставляют их по-другому реагировать на повреждения ДНК. С точки зрения эгоистической раковой клетки исчезновение этих ограничений дает преимущество, позволяя им продолжать делиться даже с поврежденной ДНК. В то же время это ускоряет накопление мутаций в опухолевых клетках и способствует повышению злокачественности опухоли. У раковых клеток зачастую оказываются нарушенными и другие механизмы проверки, регулирующие клеточный цикл. Таким образом, они часто вступают в клеточный цикл, несмотря на повреждения, тем самым способствуя дальнейшим нарушениям, в том числе столь часто на-

блюдаемым хромосомным аномалиям. Несмотря на то что клеточный цикл у них длится дольше, чем у нормальных делящихся клеток, со временем клетки с генетическими нарушениями накапливаются, поскольку имеют большую склонность к пролиферации. Эта способность побеждать в борьбе, несмотря на значительные повреждения (или благодаря им), является принципиальной характеристикой раковых клеток.

20.1.12. Раковые клетки у человека могут обходить естественные ограничения пролиферации

У многих нормальных человеческих клеток число делений ограничено: если стимулировать пролиферацию клеток в культуре, они прекращают делиться после нескольких (25–50 в случае фибробластов) циклов удвоения. Это явление называется **репликативным старением клетки** (см. главу 17). Число делений клетки, как правило, ограничивается длиной теломер на концах хромосом, укорачивающихся с каждым делением и меняющих, в конце концов, свою структуру. Как обсуждалось в главе 5, в репликации теломерной ДНК в S-фазе участвует фермент **теломераза**, поддерживающий постоянство особой теломерной последовательности и запускающий сборку белкового «защитного колпака». Поскольку многие пролиферирующие клетки человека (не стволовые) не вырабатывают теломеразу, их теломеры укорачиваются с каждым делением, а их защитные комплексы разрушаются. В конечном итоге изменения хромосомных концов приводят к полной остановке клеточного цикла.

Подобный механизм подсчета ставит физиологическое ограничение числа делений для большинства типов клеток организма. Раковые клетки человека, чтобы образовать опухоль, должны каким-то образом обойти это ограничение. У грызунов, напротив, некоторые клетки поддерживают теломеразную активность и, соответственно, нормальную длину теломер при делении; поэтому число делений таких клеток не ограничено. Согласно одной из гипотез, человеку репликативное старение клеток необходимо именно затем, чтобы помочь предотвратить рак. При нашей сравнительно большой продолжительности жизни без такого приспособления прогрессирующие опухоли возникали бы слишком часто.

Раковые клетки человека могут обходить ограничение двумя способами. Во-первых, в них могут произойти генетические или эпигенетические изменения, отменяющие контроль качества генетического материала; такие клетки могут вступать в клеточный цикл даже в отсутствие защитного белкового комплекса на теломерах. К такому эффекту приводят мутации p53-пути, очень распространенные среди раковых клеток. Другая стратегия состоит в том, чтобы поддерживать теломеразную активность; при этом теломеры при делении не укорачиваются и не теряют защитного комплекса. В некоторых случаях теломеразная активность в раковых клетках сохраняется потому, что эти клетки произошли от стволовых клеток, содержащих активную теломеразу. В других случаях клетки-предшественники раковых клеток не обладали теломеразной активностью, но раковые клетки приобрели ее в процессе естественного отбора. Кроме того, бывают раковые клетки, способные удлинять концевые участки хромосом. Но независимо от выбранной стратегии, все они приводят к одному результату: раковые клетки продолжают пролиферировать в тех условиях, при которых нормальные клетки выходят из клеточного цикла.

20.1.13. Небольшая популяция раковых стволовых клеток ответственна за развитие многих опухолей

Как мы будем обсуждать в главе 23, в норме постоянно обновляющиеся ткани построены по принципу иерархии: немногие стволовые клетки, делящиеся медленно, дают начало транзиторным стволовым (амплифицирующим) клеткам, очень интенсивно пролиферирующим и в конце концов превращающимся в высокоспециализированные клетки ткани. Численность популяции не снижается, поскольку некоторые из дочерних клеток остаются стволовыми (этот процесс носит название *самообновления*), в то время как другие вступают на путь дифференцировки. В настоящее время все больше данных свидетельствует о том, что многие виды рака организованы сходным иерархическим образом. При этом несколько **раковых стволовых клеток**, находясь на верхней ступени иерархии, отвечают за поддержание численности популяции опухолевых клеток. Такие стволовые клетки могут бесконечно самообновляться и давать начало быстро делящимся клеткам с ограниченной способностью к самообновлению. Лишь недавно было установлено, что именно клетки с ограниченным потенциалом роста составляют большую часть клеток многих раковых опухолей.

Более 40 лет назад обнаружено, что клетка, случайно выбранная из массы раковых клеток, при проверке на способность образовать опухоль (например, при ее имплантации в мышь, страдающую иммунодефицитом) дает положительный результат не более чем в 1% случаев. Новые технологии отбора клеток показали, что во многих случаях раковые клетки неоднородны и лишь небольшая их часть обладает специфическими свойствами, необходимыми для образования опухоли. При некоторых формах опухолей маленькую популяцию предполагаемых раковых стволовых клеток можно обогатить, если использовать проникающий через плазматическую мембрану флуоресцентный краситель, а затем разделить клетки при помощи клеточного сортера (см. рис. 8.2). Если суспензию нормальных клеток окрасить этим красителем и пропустить через сортер, то концентрация стволовых клеток часто оказывается высокой в немногочисленной побочной популяции слабо флуоресцирующих клеток. Стволовые клетки флуоресцируют слабо, поскольку в их плазматической мембране находится АВС-транспортер (см. главу 11), активно выкачивающий краситель наружу.

При таком анализе клеток ряда раковых опухолей было обнаружено, что в небольшой побочной популяции клеток с АВС-транспортером содержится большая часть, если не все клетки, способные образовывать опухоли при их пересадке иммунодефицитным мышам (это общепринятый тест для выявления раковых стволовых клеток). Примечательно, что это справедливо и в случае клеток, культивируемых искусственно уже более тридцати лет: во всех таких линиях клетки побочной популяции беспрепятственно образуют опухоли после трансплантации, в то время как остальные, сильно флуоресцирующие клетки, а это большинство клеток линии, опухолей не образуют (**рис. 20.15**). Более того, если изолированную из такой клеточной линии побочную популяцию культивировать *in vitro*, то в этой новой культуре быстро восстанавливается и поддерживается исходное соотношение клеток с маленькой побочной популяцией, тогда как при культивировании клеток, не входящих в побочную популяцию, клетки побочной популяции не появляются.

Это согласуется с данными других исследований, в которых проводили фракционирование клеток с использованием антител к стволовым клеткам.

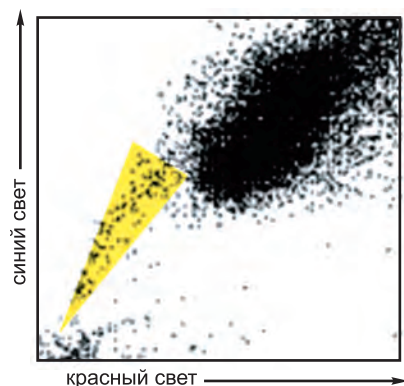


Рис. 20.15. Популяция раковых клеток неоднородна, и среди них раковые стволовые клетки составляют немногочисленную фракцию. В этом примере клетки из устойчивой клеточной линии, выведенной из клеток глиомы крысы, окрашены с помощью вещества, проникающего сквозь плазматическую мембрану (Hoechst 33342), а затем отсортированы с помощью клеточного сортера. Около 0,4% выкачивали краситель наружу и оставались поэтому лишь слегка окрашенными (отмечены *желтым*). Экспериментальное сравнение клеток этой побочной популяции (ПП) с остальными клетками показало, что только клетки побочной популяции могли интенсивно делиться и формировать опухоли. Более того, клетки ПП могли производить два типа клеток: принадлежащие ПП и не принадлежащие ПП, однако клетки не из ПП могли делиться лишь с образованием клеток, не входящих в ПП. (Из T. Kondo,

T. Setoguchi and T. Taga, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101: 781–786, 2004, с изменениями. С разрешения National Academy of Sciences.)

20.1.14. Как возникают раковые стволовые клетки?

Осознание того, что во многих случаях рост раковых опухолей поддерживается немногочисленной популяцией раковых стволовых клеток, имело большие последствия. Это позволило глубже понять природу заболевания и усовершенствовать методы его лечения, но оставило ряд новых вопросов. Как возникают раковые стволовые клетки? Какова их природа? Какая молекулярная характеристика отличает их от остальных раковых клеток? Результаты исследований, проведенных на раковых клетках в культуре, свидетельствуют о том, что эти различия скорее эпигенетические, нежели генетические.

В случае некоторых опухолей установлено, что начало раковому заболеванию дает нормальная стволовая клетка, постепенно накапливающая мутации и эпигенетические изменения, ответственные за асоциальное поведение раковых клеток. Например, именно так развивается хронический миелолейкоз. Мультипотентная кроветворная стволовая клетка из костного мозга больного может содержать филадельфийскую хромосому, характерную для этого заболевания. Многие виды рака у человека берут свое начало от нормальных стволовых клеток, поскольку раковые опухоли возникают в эпителии — постоянно обновляющейся ткани. В таких тканях лишь стволовые клетки не покидают тела и проходят достаточное количество циклов деления, чтобы накопить мутации, необходимые для образования опухоли.

Второй способ образования опухоли — из более дифференцированной пролиферирующей клетки, например из временно размножающейся клетки. Изменения должны придавать клетке две существенные характеристики: способность к выживанию в человеческом организме и способность к длительному самообновлению. Тогда и только тогда у клетки будет достаточно времени, чтобы накопить другие мутации и эпигенетические изменения, необходимые, чтобы стать полноценной раковой клеткой. Вероятно, так происходит развитие В-клеточного лимфоцитарного лейкоза. При этом заболевании во всех раковых клетках гены антител (см. главу 25) устроены одинаковым образом. Это свидетельствует о том, что раковые клетки произошли от одного дифференцированного В-лимфоцита, а не от недифференцированной стволовой клетки. По всей видимости, большинство раковых опухолей человека берет

начало от стволовой клетки, однако некоторые из видов рака происходят от клетки, приобретшей способность к постоянному самообновлению (рис. 20.16).

Современные методы лечения, такие как облучение и цитотоксические препараты, вероятнее всего, убивают преимущественно быстро делящиеся раковые клетки. Поскольку раковые стволовые клетки делятся довольно медленно, они не столь чувствительны к такому воздействию. Более того, в 1970-х гг. выдвинута гипотеза о том, что в процессе эволюции выработались механизмы, не позволяющие стволовым клеткам накапливать мутации. В частности, в связи с тем что многие мутации возникают из-за ошибок при репликации ДНК, может ли существовать механизм, согласно которому при каждом делении «старая» цепь ДНК, служащая

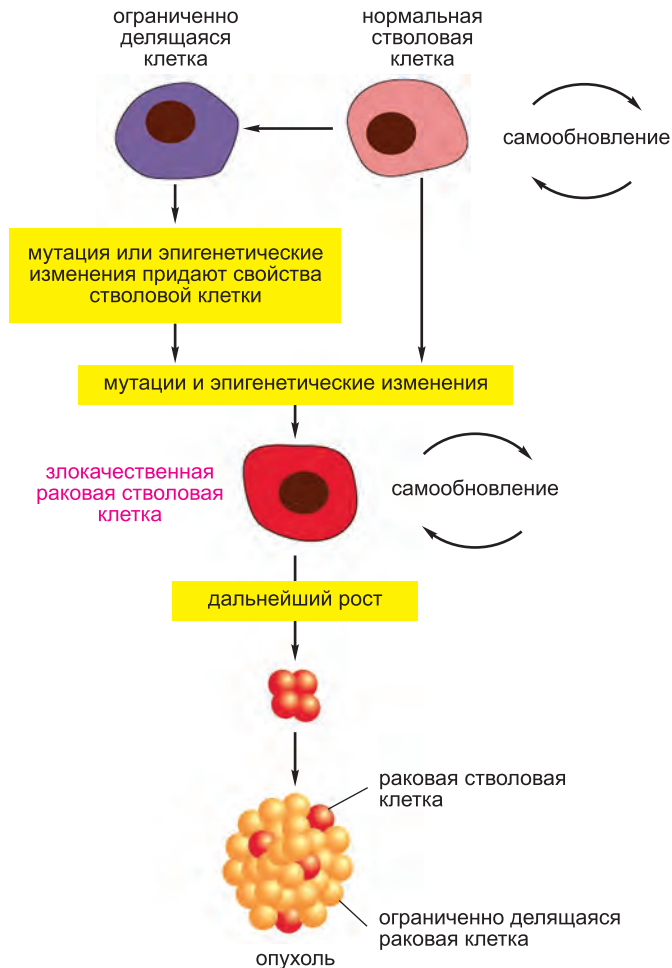


Рис. 20.16. Причиной рака могут быть раковые стволовые клетки. По определению, раковые стволовые клетки — это клетки, способные к самообновлению, т.е. к такому делению, при котором некоторые из дочерних клеток остаются раковыми стволовыми клетками, а другие превращаются в нестволовые клетки и не могут дать начало опухоли (превращаясь, например, в ограниченно делящиеся раковые клетки). Раковые стволовые клетки могут развиваться из нормальной стволовой клетки, в которой произошла мутация, сделавшая ее раковой, либо из более дифференцированной клетки, ставшей стволовой в результате мутации либо эпигенетического изменения.

матрицей при репликации, всегда попадает в ту дочернюю клетку, которая остается стволовой? Как выяснилось в недавних исследованиях, такой механизм существует, причем только в стволовых клетках (см. рис. 23.16).²

Если раковые стволовые клетки не уничтожены, то рак, скорее всего, не излечится. Возможно, в этом заключается причина рецидивов после довольно успешной терапии. Чтобы окончательно вылечить рак, необходимо разработать более совершенные методы обнаружения и ликвидации раковых стволовых клеток.

20.1.15. Чтобы образовать метастазы, злокачественные раковые клетки должны выжить и размножиться в новой ткани

Метастаз является наиболее летальным (и наименее изученным) аспектом раковых заболеваний; в 90% большой раком умирает именно из-за метастаза. Если раковые клетки распространились по всему организму, их практически невозможно уничтожить ни хирургическим путем, ни локальным облучением. Метастазирование — многостадийный процесс: раковые клетки должны внедриться в местные ткани и сосуды, чтобы быть подхваченными током крови или лимфы, затем выйти из сосуда и основать клеточную колонию в новом месте. Каждый из этих этапов, в свою очередь, проходит в несколько стадий, и молекулярные механизмы, принимающие участие в этих процессах, по большей части еще не выяснены.

Чтобы успешно метастазировать, раковые клетки должны разорвать связи, удерживающие клетки на своих местах и не дающие им внедриться в другую ткань. Таким образом, инвазивность является одной из определяющих характеристик злокачественных опухолей, которым свойственна изрезанность границ занимаемой области и экспансия на соседние ткани (см., например, рис. 20.9). Хотя молекулярные механизмы этого явления еще не до конца понятны, ясно, что инвазивность почти всегда означает разрыв контактов, соединяющих клетки друг с другом и с внеклеточным матриксом. Как мы обсудим далее, в случае карцином такое изменение соответствует *эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП)*, происходящему иногда и в нормальных развивающихся тканях (см. рис. 19.12).

Следующий этап метастазирования — основание колонии в удаленной ткани. Это медленная, сложная и неэффективная процедура; ее проходят лишь немногие клетки. Прежде чем метастаз можно будет назвать успешным, клетка должна пройти сквозь стенку кровеносного или лимфатического сосуда, миновав при этом базальную мембрану и эндотелий сосуда. При этом клетка попадает в кровяное или лимфатическое русло, переносится с током жидкости в новое место и покидает сосуд. После этого клетка формирует вначале небольшой комок — микрометастаз. Для завершения метастазирования в составе микрометастаза должны появиться клетки, способные выжить и далее размножиться в новой среде; этот сложный процесс называется колонизацией (рис. 20.17).

В стенках сосудов, оплетающих опухоль, имеются брешки, и похоже, что многим опухолевым клеткам удается проникнуть в лимфатический или кровеносный сосуд. Однако эксперименты показывают, что лишь малая часть этих клеток, быть может, одна клетка на миллион, выживает и дает начало чему-то большему, чем микромета-

² Полуконсервативный механизм репликации ДНК приводит к тому, что в любом случае в составе хромосомы одна нить ДНК в дуплексе является «старой», а другая «новой», а обе дочерние клетки всегда получают «старые» и «новые» молекулы ДНК. Если данное справедливо в случае раковых стволовых клеток, то это может делать их устойчивыми к лечебным факторам, убивающим другие клетки. — *Прим. ред.*

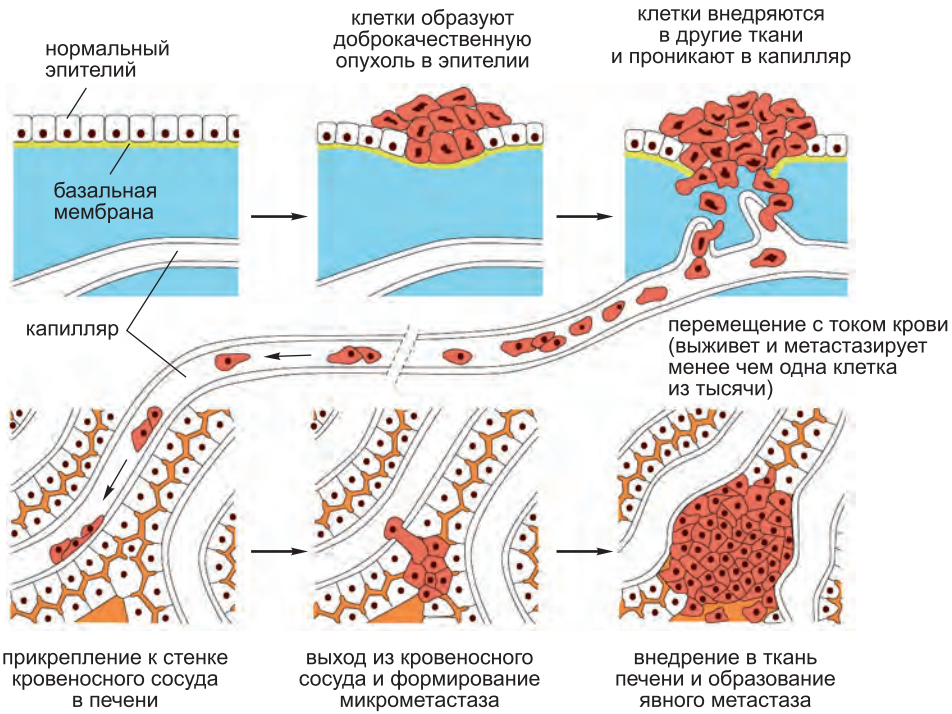


Рис. 20.17. Этапы метастазирования. Здесь показано распространение опухолевых клеток из внутреннего органа (например, мочевого пузыря) в печень. Опухолевые клетки могут попасть в кровяное русло напрямую, сквозь стенку кровеносного сосуда, как изображено здесь, или (что чаще всего и происходит) сквозь стенку лимфатического сосуда, содержимое которого попадает в конце концов в кровь. Опухолевые клетки, проникшие в лимфатический сосуд, часто задерживаются в лимфатических узлах, что приводит к метастазам в лимфоузлы. Согласно исследованиям на животных, менее чем одна раковая клетка из тысячи способна внедриться в новую ткань и сформировать заметную опухоль.

стаз. Во многих случаях рак удается обнаружить прежде, чем раковые клетки смогут основать колонию, и тогда его можно вылечить, удалив первичную опухоль.

Хотя, в принципе, возможно, что все раковые клетки, попадающие в кровяное русло, имеют равные (малые) шансы выжить, основать колонию клеток и размножиться в чужеродной ткани, это представляется маловероятным. Скорее, низкая эффективность колонизации отражает то, что клетки с необходимыми для этого особыми свойствами встречаются крайне редко. То есть вполне возможно, что лишь совсем немногие раковые клетки являются, с одной стороны, стволовыми и могут делиться неограниченно и, с другой стороны, обладают способностью основать колонию и выжить в чужом для них окружении. Немногочисленность стволовых клеток объясняет, почему так мало клеток, образовав микрометастаз, успешно внедряется в ткань.

Необходимость особых способностей к выживанию, вероятно, является еще одним ограничением. Жизнь нормальной клетки зависит от внеклеточных факторов выживания, которых обычно в среде довольно много; при их недостатке клетки претерпевают апоптоз (см. главу 18). Раковые клетки, способные к метастазу, часто более устойчивы к апоптозу по сравнению с нормальными клетками, и поэтому

у них больше шансов выжить вдали от родной ткани. Кроме того, они в меньшей степени зависят от сигналов к росту и делению, приходящих от других клеток.

20.1.16. Опухоли индуцируют ангиогенез

Вдобавок ко всем описанным ограничениям для успешного роста опухоль должна обеспечить своим клеткам адекватное кровоснабжение, чтобы им хватало кислорода и питательных веществ. Таким образом, опухоль, размер которой превышает определенную величину, нуждается в ангиогенезе, то есть формировании новых кровеносных сосудов. Так же как и нормальные ткани, для обеспечения снабжения кровью при гипоксии опухоль выделяет ангиогенные факторы роста. Гипоксия начинается, когда диаметр опухоли достигает одного-двух миллиметров. Гипоксия стимулирует выработку *гипоксия-индуцибельного фактора-1α* (*Hypoxia Unducible Factor-1α*, *HIF-1α*), белка-регулятора генной экспрессии (см. главу 23); этот белок, в свою очередь, активирует транскрипцию генов, кодирующих проангиогенные факторы, такие как *фактор роста эндотелия сосудов* (*vascular endothelial growth factor*, *VEGF*). Эти секретируемые белки привлекают клетки эндотелия и стимулируют рост новых кровеносных сосудов (см. рис. 23.34). Сосуды не только снабжают опухоль питательными веществами и кислородом, но, кроме того, формируют путь, по которому клетка может покинуть опухоль и начать метастазировать.

Однако формируемые таким образом кровеносные сосуды извилисты, их диаметр не везде одинаков, в стенках есть бреши, а многие ответвления являются тупиковыми. Эти аномалии, вызванные, по всей вероятности, неправильным балансом сигнальных молекул, приводят к нерегулярному току крови внутри опухоли, в результате чего возникают дополнительные области гипоксии (рис. 20.18).

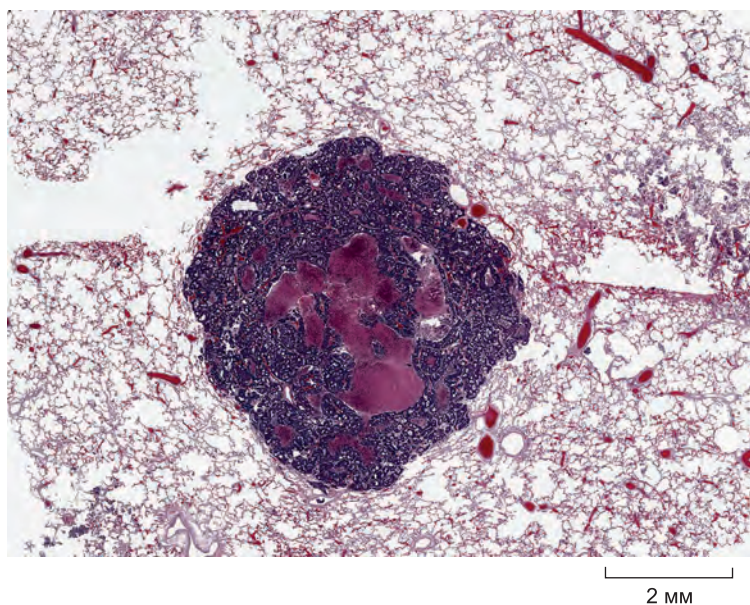


Рис. 20.18. Метастаз в легкое при аденокарциноме толстой кишки. На этом срезе ткани видны хорошо дифференцированные раковые клетки прямой и ободочной кишки, формирующие железистые структуры, уже находясь в легком. Центральные области розового цвета — это зоны некроза, в которых раковым клеткам не хватает кровоснабжения. (С любезного разрешения Andrew J. Connolly.)

В свою очередь, гипоксия является фактором отбора, способствуя выживанию тех клеток, которые лучше приспособлены к этим жестким стрессовым условиям. Такие клетки обычно оказываются и более злокачественными. Однако в конечном счете рост опухоли возможен лишь при соответствующем кровоснабжении, и аномальные кровеносные сосуды, пронизывающие опухоль, разумеется, являются одной из мишеней терапии рака.

20.1.17. На развитие раковой опухоли влияет ее микроокружение

Как упоминалось выше, карциномы представляют собой сложные образования, содержащие, помимо раковых, множество других клеток. Самыми аномальными являются, конечно же, раковые клетки, поскольку они аккумулируют в себе мутации, происходящие в опухоли, однако и другие клетки опухоли, особенно клетки соединительнотканной **стромы**, не так уж безобидны. Ведь развитие опухоли во многом опирается на взаимодействие между клетками опухоли и ее стромы, точно так же как при нормальном развитии эпителиальных органов большую роль играет взаимодействие между эпителиальными и мезенхимальными клетками (см. главу 22).

Строма образует каркас опухоли и состоит из обычной соединительной ткани. В ее состав входят фибробласты, миофибробласты, лейкоциты, эндотелиальные клетки кровеносных и лимфатических сосудов, а также их спутники — перициты и гладкомышечные клетки (**рис. 20.19**). По мере прогрессирования карциномы раковые клетки индуцируют изменения стромы, выделяя сигнальные белки, заставляющие клетки стромы сменить линию поведения, а также протеолитические ферменты, модифицирующие внеклеточный матрикс. Стромальные клетки, в свою

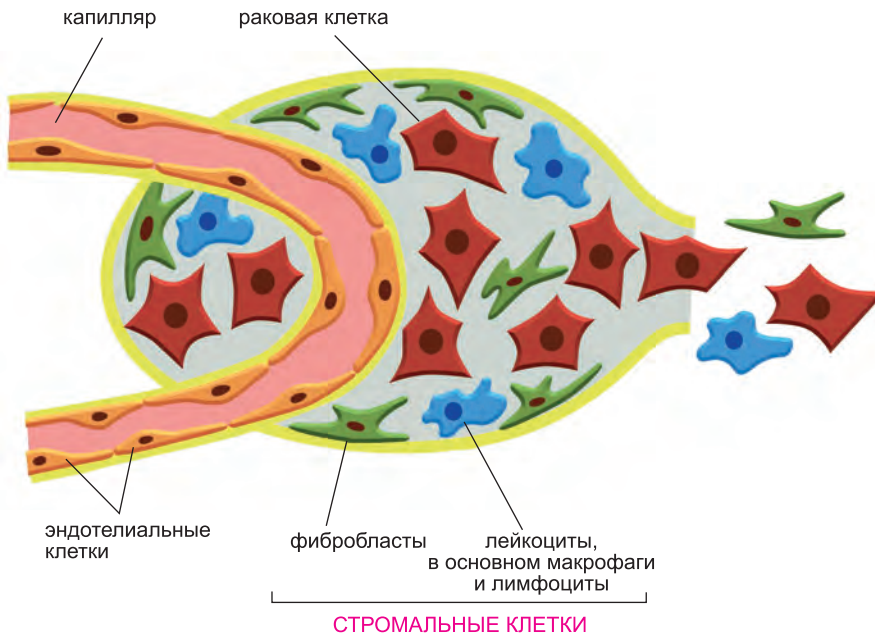


Рис. 20.19. Микроокружение опухоли влияет на ее развитие. Опухоль состоит из клеток многих типов, среди них — раковые клетки, клетки сосудистого эпителия, фибробласты и лейкоциты, участвующие в воспалительной реакции. Взаимодействия между этими и другими клетками играют важную роль в развитии опухоли.

очередь, тоже влияют на опухоль. Они выделяют сигнальные белки, стимулирующие деление и рост раковых клеток, а также протеазы, приводя к дальнейшей перестройке внеклеточного матрикса. То есть опухоль и ее строма развиваются согласованно, а опухоль зависит от окружающих ее конкретных стромальных клеток. Эксперименты на мышцах показали, что при трансплантации некоторых карцином их рост зависит от наличия специализированных фибробластов, и обычные фибробласты не могут их заменить. Можно привести другой пример: у мышей, не вырабатывающих особую металлопротеиназу матрикса, секретируемую обычно тучными клетками стромы, рост опухоли в коже сильно замедляется. Эта протеаза отвечает за высвобождение факторов ангиогенеза из внеклеточного матрикса, без чего невозможен ангиогенез, а без последнего невозможен рост опухоли. Эти и другие результаты говорят о том, что лечение рака должно быть направлено не только на уничтожение самих опухолевых клеток, но и на ингибирование активности стромальных клеток.

20.1.18. Как правило, у раковых клеток есть несколько характерных признаков

Очевидно, чтобы вызвать рак, клетка в своем развитии должна приобрести ряд характерных свойств (или, что в данном случае то же, разрушительных способностей). Комбинация этих свойств у каждого вида ракового заболевания своя. Тем не менее мы можем составить небольшой список ключевых свойств раковых клеток:

1. Они более самодостаточны, чем другие клетки, и не в такой степени зависят от факторов роста и пролиферации. Например, в отличие от большинства нормальных клеток, они часто выживают и делятся в культуре клеток, не прикрепляясь при этом к субстрату, а свободно плавая в суспензии;
2. Они относительно нечувствительны к антипролиферативным внеклеточным сигналам;
3. Они не столь подвержены апоптозу, как нормальные клетки;
4. У них отсутствуют внутриклеточные механизмы контроля, в норме останавливающие клеточный цикл в ответ на стрессовое воздействие или повреждение ДНК;
5. Они заставляют клетки стромы способствовать своему росту;
6. Они индуцируют ангиогенез;
7. Они покидают свою ткань (то есть являются инвазивными) и выживают и размножаются в чужой ткани (метастазируют);
8. Они генетически нестабильны;
9. Они либо вырабатывают теломеразу, либо стабилизируют свои теломеры иным способом.
10. В одном из следующих разделов мы обсудим мутации и молекулярные механизмы, лежащие в основе этих свойств, а также факторы среды, способствующие развитию рака.

Заключение

Раковые клетки, по определению, растут и пролиферируют, несмотря на естественные ограничения (то есть являются неопластическими), а также способны внедряться в окружающие ткани и колонизировать удаленные органы (то есть являются злокачественными). Они дают начало вторичным опухолям,

или метастазами, в результате чего их становится трудно искоренить хирургически или с помощью местного облучения. Считается, что раковые опухоли происходят от одной клетки, претерпевшей начальную мутацию. Однако, чтобы стать раковыми клетками, ее потомки должны накопить достаточное количество дополнительных мутаций и эпигенетических изменений. Начальной клеткой раковой опухоли может быть стволовая клетка, изначально способная неограниченно самообновляться, или более дифференцированная клетка, которая приобрела такую способность. Прогрессирование опухоли обычно занимает многие годы и является, по сути, микроэволюционным процессом, при котором мутации либо эпигенетические изменения соматических клеток сопровождаются естественным отбором.

Эволюционируя, размножаясь и распространяясь, раковые клетки приобретают особые свойства. У них происходят изменения сигнальных путей, позволяющие клеткам игнорировать сигналы со стороны своего окружения, в норме удерживающие пролиферацию клеток под контролем. В процессе своей эволюции у раковых клеток нарушаются механизмы дифференцировки и внутреннего контроля, которые в норме останавливают клеточный цикл в ответ на стресс или повреждение ДНК. Все эти изменения повышают способность раковых клеток выживать, расти и делиться в своей ткани, а также метастазировать. Последнее означает способность выжить и начать делиться в чужой для себя среде. Однако эволюция раковых клеток затрагивает не только сами эти клетки; в ней также принимают участие клетки микроокружения опухоли, объединяемые термином «строма». Помимо прочего, сюда относятся новые кровеносные сосуды, позволяющие опухоли вырастать до больших размеров и метастазировать с током крови.

Поскольку для обретения таких асоциальных свойств требуется накопить много генетических и эпигенетических изменений, неудивительно, что почти все раковые клетки генетически нестабильны. Генетическая нестабильность может быть обусловлена нарушениями системы репарации ДНК или механизмов исправления ошибок репликации, ведущими к изменению последовательности ДНК. Также распространены нарушения сегрегации хромосом, что приводит к хромосомной нестабильности и аномалиям кариотипа. Такие нестабильные клетки лучше проходят отбор, поскольку генетическая нестабильность резко ускоряет накопление дальнейших генетических и эпигенетических изменений, способствуя тем самым прогрессированию опухоли.

20.2. Профилактика рака

В развитие ракового заболевания вносят вклад многие факторы — начиная от генетической конституции человека и заканчивая внешней средой и образом жизни. Существует, вероятно, некоторый базовый уровень заболеваемости раком, не зависящий от обстоятельств: невозможно совершенно избежать мутаций, ведь они являются неизбежным следствием фундаментальных ограничений точности репликации и репарации ДНК (см. главу 5). Если бы люди жили достаточно долго, то можно было бы с уверенностью сказать, что за время жизни хотя бы одна клетка организма накопила бы достаточно мутаций, чтобы дать начало раковой опухоли.

Тем не менее можно показать, что факторы среды, в том числе наше питание, приближают наступление болезни. Яснее всего это видно при сравнении заболе-

ваемостей в разных странах: почти любой вид рака в одной стране более распространен, чем в какой-то другой. Поскольку у мигрантов чаще распространен вид рака, свойственный стране, их приютившей, нежели их родной стране, разница, по-видимому, обусловлена скорее не генетическими факторами, а именно влиянием среды. Исходя из этих данных, можно дать следующую оценку: 80–90% случаев заболевания раком можно избежать или, как минимум, перенести на несколько лет (рис. 20.20).

К сожалению, разным видам рака способствуют разные факторы среды, и те, кто смог избежать действия одного из них, может подвергнуться другому опасному влиянию.



| факторы среды и образа жизни | форма рака | % от общего числа случаев |
|---|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ● профессиональное облучение ● факторы, связанные с курением табака ● питание: мало овощей, много поваренной соли и нитратов ● питание: жирная, жареная пища, мало пищевых волокон | <ul style="list-style-type: none"> различные формы рак легких, почек, мочевого пузыря рак желудка, пищевода рак внутренних органов, поджелудочной железы, простаты, груди рак ротовой полости, глотки | <ul style="list-style-type: none"> 1–2 24 5 37 2 |
| б) ● табак и алкоголь | | |

Рис. 20.20. Заболеваемость раком зависит от окружающей среды. а) На этой карте красными стрелками отмечено повышение, а синими — снижение заболеваемости раком при переселении из одной страны в другую. Эти наблюдения говорят о том, что риск заболеть раком в большой степени определяется факторами внешней среды, в том числе и питанием. б) Некоторые оценки влияния среды и образа жизни на заболеваемость раком в США. В таблице указана доля (в процентах) всех случаев рака, которые можно приписать действию того или иного фактора. (б: из Cancer Facts and Figures, American Cancer Society, 1990, с изменениями. С разрешения American Cancer Society.)

Однако и это можно предотвратить. Существуют группы людей, которые, благодаря своему образу жизни, значительно снижают общую заболеваемость раком среди людей данного возраста. На сегодняшний день в США и Европе от рака умирает каждый пятый. Однако заболеваемость раком среди ортодоксальных мормонов в штате Юта, не потребляющих алкоголь, кофе, табак и наркотики и не вступающих в случайные половые связи, снижена в два раза по сравнению с заболеваемостью американцев в целом (что характерно, это не касается неортодоксальных членов семьи). Заболеваемость раком также низка среди довольно многочисленных народов Африки.

Хотя подобные наблюдения и говорят о том, что заболевания зачастую можно избежать, в большинстве случаев очень трудно выделить конкретные факторы среды (за исключением курения табака) или понять, каким образом они влияют на заболеваемость. Давайте сначала взглянем, что нам известно о факторах, вызывающих рак, а затем рассмотрим достижения у трудности на пути предотвращения рака. Лечение рака мы рассмотрим в последнем разделе, после того, как познакомимся с молекулярной основой заболевания.

20.2.1. Многие (но не все) канцерогенные факторы повреждают ДНК

Факторы, которые могут вызвать рак, или канцерогены, многочисленны и разнообразны, однако легче всего понять, как действуют те из них, которые вносят изменения в ДНК и вызывают мутации. Такими мутагенами могут быть химические вещества или разные виды излучения — от ультрафиолета, содержащегося в солнечных лучах, до ионизирующего излучения, такого как γ -лучи и α -частицы, возникающие при радиоактивном распаде.

Самые разные вещества, при их введении подопытному животному с пищей или при регулярном нанесении на кожу, обнаруживают канцерогенные свойства. Среди них — многие ароматические углеводороды и их производные, в том числе ароматические амины, нитрозамины, алкилирующие агенты, например иприт. Все эти различные по структуре соединения объединяет одно — они вызывают мутации. Широко применяется следующий тест на мутагенность: канцероген смешивается с активирующим экстрактом, выделенным из печени крысы (это делается для того, чтобы имитировать биохимические процессы у интактного животного, см. далее), а затем добавляется к культуре специально выведенных тестовых бактерий. Затем измеряется скорость мутагенеза у бактерий (рис. 20.21). Многие соединения, проявившие свои мутагенные свойства в этом быстром и удобном тесте, вызывают мутации и хромосомные aberrации и в клетках млекопитающих. При анализе различных данных о мутагенности выясняется, что очень многие канцерогены являются мутагенами.

Некоторые из этих канцерогенов действуют непосредственно на ДНК, но, как правило, самые мутагенные из них химически довольно инертны. Они приобретают силу лишь после особой модификации, в результате которой они превращаются в высоко реакционноспособную форму. Эта трансформация происходит в печени и катализируется несколькими внутриклеточными ферментами, известными как *цитохромы P450*. В норме эти ферменты участвуют в превращении попавших в организм токсинов в безвредные и легко выводимые формы. К сожалению, в ряде случаев их действие приводит к появлению крайне мутагенных соединений. В качестве примеров канцерогенов, активируемых таким образом, можно привести грибной яд *афлатоксин В1* и *бензпирен*, содержащийся в дегте и табачном дыме (рис. 20.22).

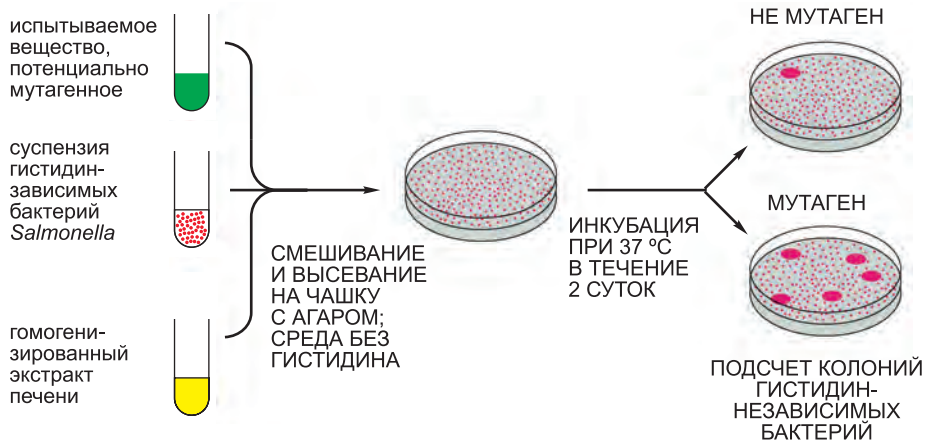


Рис. 20.21. Тест на мутагенность (тест Эймса). Для этого теста нужен штамм бактерий *Salmonella*, у которых из-за мутации нарушен синтез гистидина. Поэтому им необходимо, чтобы среда содержала гистидин; однако мутаген может вызвать обратную мутацию в гене синтеза этой аминокислоты, и тогда у бактерии пропадает потребность в ней. Чтобы сделать тест более чувствительным, берутся бактерии с нарушенным механизмом репарации ДНК, из-за чего они более подвержены действию веществ, повреждающих ДНК. Большинство веществ, проявивших мутагенные свойства в этом тесте, являются также канцерогенами.

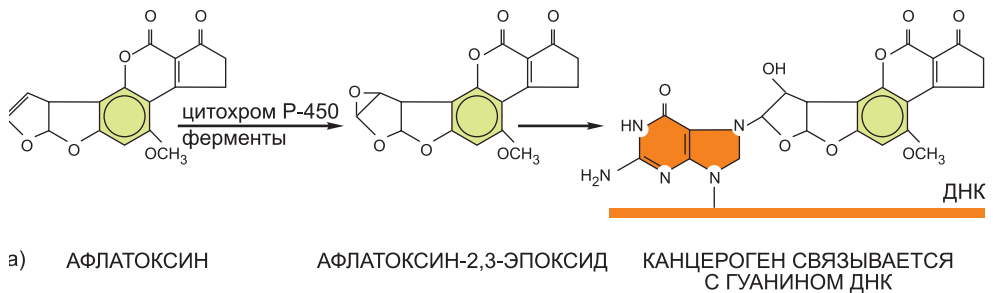


Рис. 20.22. Некоторые из известных канцерогенов. а) Активация канцерогена. Прежде чем канцероген сможет вызвать мутацию, прореагировав с ДНК, он должен претерпеть некоторые метаболические превращения. Здесь представлен афлатоксин В1, токсин плесневого гриба (*Aspergillus flavus oryzae*), растущего на злаках и арахисе во влажных условиях тропиков. Считают, что он является одной из причин заболевания раком печени у жителей тропических широт и ассоциирован с характерной мутацией в гене опухолевого супрессора p53. б) Различные канцерогены вызывают разные формы рака. (б — данные из *Cancer and the Environment: Gene Environment Interactions*, National Academic Press, 2002. С разрешения издательства National Academies Press.)

- **ВИНИЛХЛОРИД**
ангиосаркома печени
- **БЕНЗОЛ**
острые лейкозы
- **МЫШЬЯК**
рак кожи, мочевого пузыря
- **АСБЕСТ**
мезотелиома
- **РАДИЙ**
остеосаркома

20.2.2. Инициаторы канцерогенеза, в отличие от промоторов канцерогенеза, повреждают ДНК

Не все вещества, способствующие развитию рака, являются мутагенами. Яснее всего это показано в классических работах, в которых изучалось влияние канцерогенов на кожу мышей: так очень удобно следить за развитием опухоли. Рак кожи вызывался у мышей регулярным нанесением повреждающего ДНК канцерогена, например бензпирена или родственного ему диметилбензантрацена (ДМБА). Однако одно лишь нанесение вещества само по себе не могло вызвать опухоль или сколь-нибудь очевидную аномалию. Тем не менее, оно вызывает мутации, которые значительно увеличивают вероятность развития опухоли при дополнительном воздействии канцерогена или совершенно иных факторов. Канцероген, который таким образом «сеет семена» будущей опухоли, выступает в качестве **инициатора канцерогенеза**.

Если повредить кожу, которая однажды подверглась воздействию инициатора канцерогенеза, то одно это может стимулировать пролиферацию клеток на краю раны и привести к раку. Как упомянуто ранее, лейкоциты, участвующие в воспалительной реакции в области повреждения, предположительно, способствуют развитию рака. С другой стороны, регулярное (с периодом в несколько месяцев) воздействие веществ, известных как **промоторы канцерогенеза**, которые сами по себе не являются мутагенами, может вызвать рак лишь у тех мышей, чья кожа подвергалась воздействию инициатора. Наиболее изученными промоторами являются фоболовые эфиры, такие как тетрадеcanoилфорболацетат (ТФА), который ведет себя как искусственный активатор *протеинкиназы С (PKC)* и, следовательно, активирует ветвь фосфатидилинозитольного внутриклеточного сигнального пути (см. главу 15). Эти вещества с большой вероятностью вызывают рак лишь в том случае, когда они применяются после воздействия мутагенного инициатора (**рис. 20.23**).

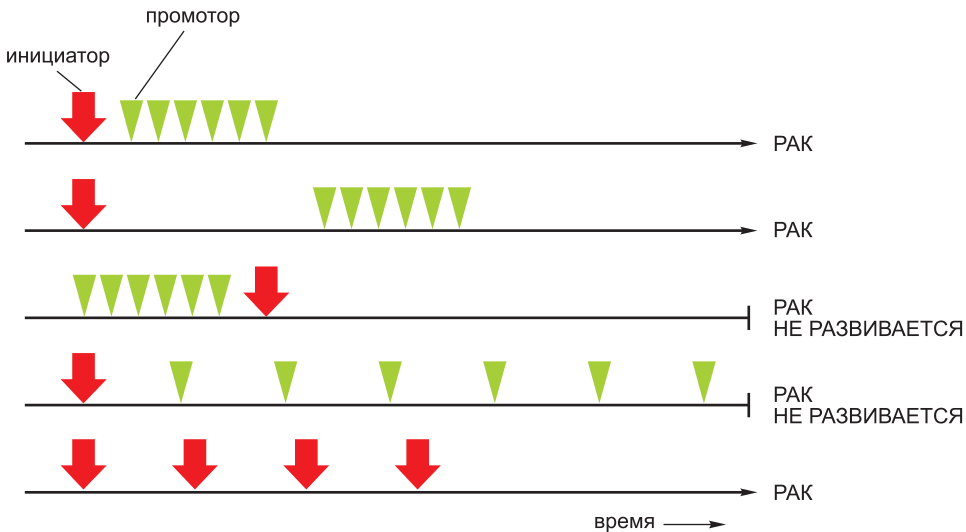


Рис. 20.23. Заболевание раком зависит от порядка следования и степени воздействия инициатора опухоли (мутагенный фактор) и промотора опухоли (немутагенный фактор). Рак развивается только в том случае, когда воздействие промотора следует за воздействием инициатора и только при превышении некоторого порога интенсивности промоторного воздействия. Кроме того, заболевание раком может произойти в случае неоднократного воздействия инициатора.

Промотор канцерогенеза, по-видимому, незамедлительно вызывает воспалительную реакцию, в результате чего в небольшом участке секретируются факторы роста и протеазы. Эти белки прямо или косвенно стимулируют деление клеток (или заставляют делиться уже дифференцированные клетки). На участке кожи, ранее подвергшемся воздействию инициатора, эта пролиферация приводит к появлению небольших, напоминающих бородавки доброкачественных опухолей — *папиллом*. Их число тем больше, чем сильнее (дольше) было воздействие инициатора. Считается, что каждая папиллома состоит из потомков одной мутантной клетки, появившейся в результате действия инициатора. Невидимые повреждения, вызываемые инициатором, как и стоит ожидать в случае мутагенного воздействия, необратимы; поэтому воздействие промотора может их раскрыть даже по прошествии длительного промежутка времени.

До сих пор нет полной ясности в отношении механизма действия промоторов канцерогенеза, и, судя по всему, разные промоторы действуют по-разному. Возможно, они просто запускают экспрессию гена, в котором произошла мутация под воздействием инициатора и который до того момента молчал: мутация, приводящая к повышенной активности, не может проявиться до тех пор, пока мутантный ген не начнет экспрессироваться. Другой вариант заключается в том, что промотор опухоли может на время изменить характер взаимодействия клетки с продуктом мутантного гена: либо он освобождает клетку от какого-то ингибирующего влияния, либо запускает выработку необходимого для пролиферации кофактора. В результате действия промотора, независимо от его механизма, клетка получает возможность

расти и делиться, образуя большой кластер клеток (рис. 20.24).

В типичной папилломе содержится около 10^5 клеток. После прекращения воздействия промотора папилломы в большинстве случаев исчезают, и кожа снова приобретает нормальный вид. Однако изредка в папилломах происходят дальнейшие изменения, позволяющие клеткам неконтролируемо делиться и расти даже тогда, когда промотор уже не действует. Похоже, что эти изменения происходят в одной из клеток папилломы с вероятностью спонтанной мутации. Таким образом, небольшая часть папиллом прогрессируют и образуют раковые опухоли. Промоторы канцерогенеза, по-видимому, способствуют развитию рака, увеличивая число клеток-носителей начальной мутации: чем больше будет этих клеток и чем чаще

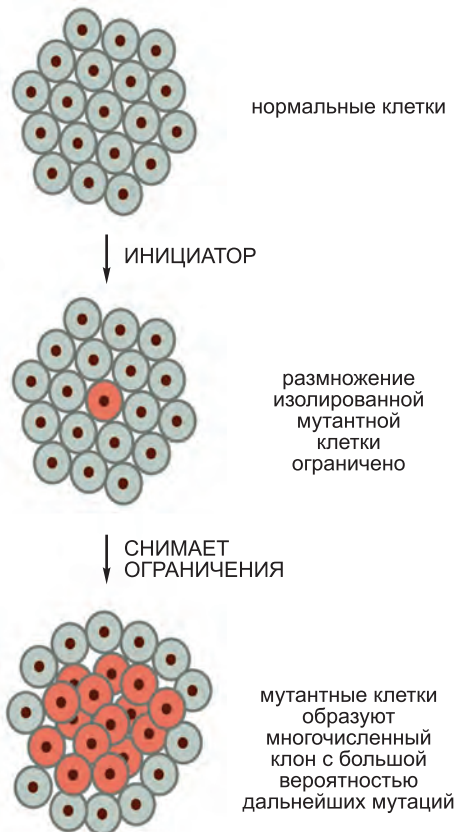


Рис. 20.24. Действие промоторов канцерогенеза. Промотор канцерогенеза создает локальное окружение, способствующее росту популяции мутантных клеток, тем самым повышая вероятность дальнейших мутаций и прогрессирования опухоли.

они будут делиться, тем больше вероятность того, что в одной из них произойдет еще одна мутация (или эпигенетическое изменение), на один шаг приближающая ее к злокачественности.

Хотя возникновению раковых клеток не обязательно должно предшествовать воздействие инициатора, а затем промотора, их эволюция должна тем не менее подчиняться аналогичным принципам. Скорость их эволюции зависит не только от частоты генетических и эпигенетических изменений, но также от действия локальных факторов, влияющих на выживание, рост, пролиферацию и распространение мутантных клеток.

20.2.3. Вирусные и невирусные инфекции вносят вклад в развитие значительной части опухолей у человека

Предполагается, что в развитии небольшой, но весьма значимой части опухолей человека, возможно около 15% по всему миру, участвуют вирусы, бактерии или эукариотические паразиты. Главными виновниками, как можно видеть из **таблицы 20.1**, являются ДНК-содержащие вирусы. Об их участии в заболевании раком свидетельствуют отчасти их обнаружение у больных раком, отчасти — эпидемиологические данные. Например, рак печени часто наблюдается в тех частях света (Африка и Юго-Восточная Азия), где распространено вирусное заболевание гепатит В, причем рак встречается почти исключительно у пациентов с признаками хронического

Таблица 20.1. Онкогенные вирусы человека

| ВИРУС | ВЫЗЫВАЕМАЯ ФОРМА РАКА | ОБЛАСТИ РАСПРОСТРАНЕНИЯ |
|--|---|--|
| ДНК-содержащие вирусы | | |
| <u>Семейство паповавирусов</u> | | |
| Папилломавирус (многие штаммы) | бородавки (доброкачественные) карцинома шейки матки | по всему миру по всему миру |
| <u>Семейство гепаднавирусов</u> | | |
| Вирус гепатита В | рак печени (гепатоцеллюлярный рак) | Юго-Восточная Азия, тропическая Африка |
| Вирус гепатита С | рак печени (гепатоцеллюлярный рак) | по всему миру |
| <u>Семейство герпесвирусов</u> | | |
| Вирус Эпштейна – Барра | лимфома Бёркита (новообразование из В лимфоцитов) рак (карцинома) носоглотки | Западная Африка, Папуа и Новая Гвинея Южный Китай, Гренландия |
| РНК-содержащие вирусы | | |
| <u>Семейство ретровирусов</u> | | |
| Т-лимфотропный вирус человека типа 1 | Т-клеточный лейкоз взрослых/лимфома | Япония, Вест-Индия |
| Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ, вирус СПИДА) | саркома Капоши | Центральная и Южная Африка |

Примечание. Число зараженных этими вирусами намного превышает число заболевших раком: для этого вирусы должны действовать в сочетании с другими факторами. Более того, многие вирусы являются лишь косвенной причиной рака; например, ВИЧ разрушает Т-хелперы, что позволяет вирусу герпеса трансформировать эндотелиальные клетки. Аналогично, вирус гепатита С вызывает хронический гепатит, способствующий заболеванию раком печени.

гепатита В. Распространение вируса гепатита С, которым заражены 170 миллионов человек по всему миру, также очевидно связано с заболеваемостью раком печени.

Непосредственную роль вируса в развитии рака зачастую трудно установить, поскольку между первым заражением вирусом и возникновением раковой опухоли проходит слишком много времени. Более того, вирус ответственен лишь за одну из стадий развития болезни и является далеко не единственной причиной заболевания. У ДНК-содержащих вирусов часто имеются гены, способные нарушить механизмы контроля деления клетки-хозяина, приводя к неуправляемой пролиферации. Среди ДНК-содержащих вирусов, действующих подобным образом, есть и папилломавирусы человека. Некоторые из них вызывают безобидные бородавки, но есть и те, что поселяются в шейке матки и способствуют развитию рака.

В некоторых случаях вирусы, вероятно, выполняют также и вспомогательную роль. Например, вирусы гепатитов В и С вызывают хроническое воспаление в печени (гепатит), стимулирующее клеточное деление и способствующее более прямому влиянию вирусов на пролиферацию клеток. У больных СПИДом вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) способствует развитию саркомы Капоши — относительно редкого в других случаях рака, нарушая работу иммунной системы и облегчая вторичное заражение вирусом герпеса (HHV-8), обладающего прямым канцерогенным действием. Хроническая паразитарная или бактериальная инфекция также может способствовать развитию рака. К примеру, основной причиной рака желудка является хроническое заражение бактерией *Helicobacter pylori*, вызывающей язву желудка. В некоторых частях света рак мочевого пузыря тесно связан с хроническим заражением паразитическими плоскими червями — кровяными сосальщиками (*Schistosoma haematobium*).

20.2.4. Идентификация канцерогенов подсказывает способ предотвращения рака

На сегодняшний день среди факторов, вызывающих рак, самым страшным является табачный дым. В нем содержатся как полные канцерогены (вещества обладающие и инициаторным, и промоторным действием), так и промоторы канцерогенеза. Другие важные химические воздействия, способствующие заболеванию раком, еще предстоит определить. Иногда высказывается мнение, что основным канцерогенным фактором среды являются последствия высокой индустриализации: загрязнение среды, повышенное потребление пищевых добавок и тому подобное, однако этот взгляд недостаточно обоснован. Такое мнение могло возникнуть отчасти из-за обнаружения высокой канцерогенности некоторых материалов, используемых в промышленности, например 2-нафтиламина или асбеста. Тем не менее, если не рассматривать повышение заболеваемости раком, вызванное курением табака, и резкое снижение заболеваемости раком желудка, причиной которого, быть может, является снижающаяся частота заражения *Helicobacter pylori*, заболеваемость распространенными видами рака в каждой данной возрастной категории за последние сто лет практически не изменилась (рис. 20.25).

Большая часть важных канцерогенных факторов не являются характерными особенностями современного мира. Наиболее ярко канцерогенные свойства (по крайней мере об этом свидетельствуют данные некоторых анализов) выражены у афлатоксина В1 (см. рис. 20.22). Его вырабатывают грибы, заражающие пищевые продукты, например арахис; он является одной из важнейших причин

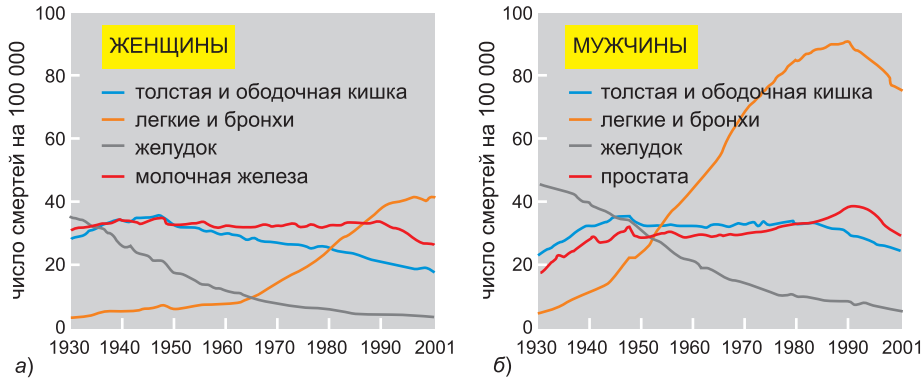
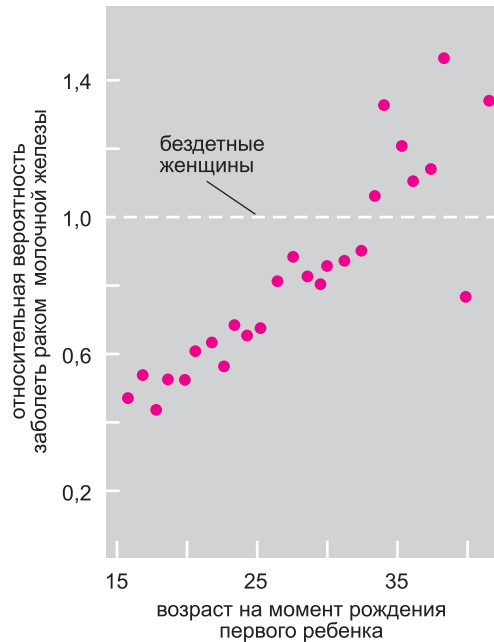


Рис. 20.25. Стандартизированная по возрасту частота смерти от рака в США за 1930–2001 годы. Частота смерти от некоторых форм рака, стандартизированная по возрастному распределению населения Соединенных Штатов в 1970 году, среди женщин (а) и мужчин (б). Обратите внимание на всплеск частоты летальных исходов рака легких у обоих полов, который соответствует увеличению числа курильщиков, а также на снижение числа летальных исходов рака желудка, что, возможно, связано с изменениями в характере питания либо с изменениями частоты заражения *Helicobacter*. В последнее время снижение смертности от других форм рака может объясняться совершенствованием методов диагностики и лечения. В подобных стандартизованных по возрасту данных скомпенсировано неизбежное повышение среднестатистической заболеваемости раком при увеличении продолжительности жизни. (Из Cancer Facts and Figures, 2005, с изменениями. С разрешения American Cancer Society.)

заболевания раком в Африке и Азии. Некоторые факторы, способствующие раку, вырабатываются в нашем теле. Так, у женщин риск заболеть раком значительно возрастает при выработке половых гормонов на разных стадиях жизни, а заболеваемость раком молочной железы зависит от репродуктивной истории женщины (рис. 20.26). Половые гормоны предпо-

Рис. 20.26. Влияние деторождения на риск заболевания раком молочной железы. На графике представлена относительная вероятность заболеть раком молочной железы в зависимости от возраста, в котором женщина родила своего первого ребенка. Вероятность дана по отношению к вероятности рака у бездетных женщин. Чем дольше длится воздействие половых гормонов до первых родов, тем больше вероятность заболеть. Считают, что при первом полном доношивании в молочной железе могут произойти необратимые изменения, касающиеся дифференцировки клеток, что заставляет их по-другому реагировать на действие гормонов. Результаты еще нескольких исследований свидетельствуют о том, что некоторые комбинации половых гормонов (особенно эстроген) могут способствовать заболеванию этим раком. (Из J. Cairns, Cancer: Science and Society. San Francisco: W. H. Freeman, 1978. По V. MacMahon, P. Cole and J. Brown, *J. Natl. Cancer Inst.* 50: 21–42, 1973. С разрешения издательства Oxford University Press.)



жительно влияют на пролиферацию клеток молочной железы. Очевидно, что при определении факторов среды, увеличивающих заболеваемость раком, мы должны смотреть широко и учитывать самые разные влияния.

Эпидемиология, анализирующая частоту встречаемости болезней среди населения, остается главным инструментом при определении канцерогенных факторов среды. Это весьма успешный и перспективный подход. К примеру, он позволил идентифицировать вред, наносимый курением табака, и указать путь к снижению общей смертности от рака в Северной Америке и Европе на 25%. Этот подход лучше всего работает в гомогенных популяциях, когда легко определить, подвергался ли данный представитель действию исследуемого фактора или нет. В таких популяциях изучаемый фактор ответственен за большую часть случаев заболевания раком определенного типа. Например, в начале XX века все рабочие одного из английских заводов, работавшие на очистке 2-нафтиламина (и, соответственно, подвергавшиеся его воздействию долгое время), в конце концов заболели раком желудка (см. рис. 20.8). Связь было сравнительно легко установить, поскольку как вещество, так и форма болезни были не характерны для других групп.

Однако с помощью одной только эпидемиологии очень трудно определить каждодневные факторы среды, способствующие развитию известных форм рака: влиянию большинства из них мы все подвергаемся в той или иной степени, к тому же многие факторы дают совместный вклад в заболеваемость определенной формой рака. Если, скажем, потребление апельсинов увеличивает или снижает в два раза риск рака толстой и прямой кишки, мы вряд ли это обнаружим, разве что у нас будет какая-то особая причина подозревать наличие такой связи. То же справедливо и для бесчисленного количества веществ, которые мы едим, пьем, которыми дышим и которые носим на себе. Но в отношении питания эпидемиология, как упоминалось выше, твердо установила: переедание, приводящие к ожирению, значительно увеличивает риск заболеть раком.

Даже если эпидемиологические данные или лабораторные тесты показали, что то или иное вещество канцерогенно, иногда довольно трудно указать, каково его допустимое воздействие на человека. Сложно оценить, сколько случаев рака вызовет то или иное количество вещества. Еще труднее сказать, каково соотношение риска и преимущества использования этого вещества. К примеру, некоторые фунгициды, применяемые в сельском хозяйстве, в опытах на животных оказались умеренно канцерогенными в высоких концентрациях. Однако подсчитано, что если бы не их использование, то загрязнение пищи метаболитами грибов, такими как афлатоксин В1, вызвало бы больше случаев рака, чем все фунгициды, вместе взятые (в той следовой концентрации, в которой они встречаются в пище).

Тем не менее попытки идентифицировать потенциальные канцерогены до сих пор играют главную роль в нашей борьбе за предотвращение рака. Профилактика не только лучше лечения, но в случае многих форм рака и гораздо проще.

Заключение

Некоторые факторы внешней среды ускоряют развитие и прогрессирование опухолей. Они могут действовать как инициаторы или промоторы канцерогенеза. Последние запускают воспалительную реакцию и создают локальную среду, изменяющую характер экспрессии генов, стимулирующую пролиферацию клеток и увеличивающую число мутантных клеток, возникших в результате действия инициатора. Большинство известных факторов среды, повышающих

заболеваемость раком, являются мутагенами. Среди них — химические канцерогены и различные формы излучения: ультрафиолет и ионизирующее излучение. Поскольку заболеваемость данной формой рака зависит от многих факторов среды, находящихся под нашим контролем, большинство форм раковых заболеваний можно (в принципе) предотвратить.

Тот факт, что иммигранты болеют теми формами рака, которые свойственны их новой стране проживания, свидетельствует, что большинство форм рака можно предотвратить, изменив характер питания и другие влияния среды. Эпидемиологический подход не нуждается в знании непосредственных механизмов влияния факторов, однако может вскрыть взаимосвязи, действующие не на химическом уровне: например, влияние образа жизни или деторождения на заболеваемость раком. Воздействия канцерогенных факторов, определенных таким образом, вполне можно избежать. Это касается курения табака и заражения папилломавирусами и вирусами гепатита В и С, способствующих заболеванию раком. Однако из-за сложности обнаружения многих факторов, повышающих риск ракового заболевания, основные онкогенные факторы пока остаются невыясненными.

20.3. Обнаружение генов, критичных для развития рака

Как мы видели, чтобы стать раковыми, соматические клетки должны накопить наследуемые изменения. Для понимания молекулярных основ этих процессов нам нужно идентифицировать мутации и эпигенетические изменения, ответственные за развитие рака, и определить, как эти изменения сказываются на поведении клетки. Часто поиск таких клеток не представляет трудности; они имеют преимущество в отборе и сами привлекают к себе внимание, давая начало опухолям. Но как можно выявить те немногие гены, изменения в которых отвечают за превращение клетки в раковую, среди множества других генов в геноме клетки? Это подобно поиску иголки в стоге сена; такая проблема возникает всякий раз, когда нужно определить ген, ответственный за мутантный фенотип, однако в случае рака такой поиск оказывается во много раз сложнее. Обычно в формировании раковых клеток задействовано множество различных мутаций и эпигенетических изменений, причем у разных пациентов эти мутации в той или иной степени отличаются; ни одного из этих изменений самого по себе не достаточно, чтобы превратить нормальную клетку в раковую. Кроме того, взаимодействие между различными модифицированными генами усложняет определение значимости того или иного изменения. Что еще хуже, раковая клетка содержит большое количество соматических мутаций, являющихся просто следствием ее генетической нестабильности, и порою определить, имеет ли конкретная мутация отношение к раковому заболеванию или нет, чрезвычайно сложно.

Несмотря на эти трудности, в раковых клетках человека выявлены многие гены (несколько сот генов), во многих случаях оказавшиеся мутантными. Разумеется, гораздо больше генов еще предстоит определить. За неимением лучшего термина, мы будем называть их **генами, ответственными за рак**, имея в виду все гены, которые часто претерпевают изменение при формировании раковой клетки. Наши знания об этих генах собраны по крупицам и добыты разными и обходными путями, начиная с ранних исследований инфекций, вызывающих рак у куриц, вплоть до изучения эмбрионального развития. Кроме того, сильно проясняют картину редкие наследственные формы рака. Сравнительно недавно появилась возможность составить

более целостную картину генетических изменений, характерную для этого заболевания, на основе данных секвенирования ДНК раковых клеток у многих больных одной и той же формой рака.

В этом разделе мы обсудим методы, используемые при идентификации генов, ответственных за рак, и различные виды наследственных изменений, происходящих с ними в процессе формирования раковых клеток.

20.3.1. Мутации, приводящие к увеличению или снижению активности генов, идентифицируют разными методами

Гены, ответственные за рак, объединяются в две большие группы согласно тому, является ли рак следствием их повышенной или пониженной активности. Гены первой группы, повышение активности которых может привести к формированию раковой клетки, называются **протоонкогенами**; гены второй группы, недостаточная активность которых может вызвать рак, носят название **генов-супрессоров опухолей**. Существует также третья группа генов, действующих косвенным образом: мутации в этих генах приводят к генетической нестабильности. Такую группу мы будем называть *генами поддержания (сохранения целостности) ДНК*.

Как мы увидим, мутации в генах первой и второй групп оказывают сходное влияние, повышая выживаемость и частоту деления клеток, а также способствуя развитию опухоли. Таким образом, с точки зрения раковой клетки онкогены и гены-супрессоры (так же как и их мутации) — это стороны одной медали. Однако для их идентификации используют разные методы в зависимости от того, повышается или понижается активность гена при развитии ракового заболевания.

Мутация в одной копии протоонкогена, превращающая его в онкоген, доминантна и стимулирует рост клетки (рис. 20.27, а). Таким образом, мы можем идентифицировать онкоген по его влиянию, просто *добавляя* его (например, путем введения в составе вирусного вектора) к геному подходящей тестовой клетки. С другой стороны, в случае гена-супрессора вызывающие рак мутации, как правило, рецессивны: часто (но не всегда), для того чтобы эффект проявился, обе копии нормального гена должны быть удалены или инактивированы (рис. 20.27, б). Подход в данном случае должен быть другим и ориентироваться на поиск *отсутствующих* компонентов раковой клетки.

В некоторых случаях для рака определенной формы характерны специфические хромосомные аномалии, видимые в микроскоп. Это может дать подсказку относительно локализации онкогена, активированного хромосомной перестройкой (см. вышеуказанный пример хромосомной транслокации, приводящей к хроническому миелолейкозу). С другой стороны, наблюдаемая в микроскоп хромосома с отсутствующим фрагментом дает указание на то, что в этом фрагменте, возможно, находится локус гена опухолевого супрессора.

20.3.2. Ретровирусы могут действовать как векторы, переносящие онкогены и изменяющие поведение клетки

Онковирусы иногда оказываются хорошими помощниками при поиске генетических причин рака. Хотя вирусы не причастны к развитию большинства из распространенных онкологических заболеваний человека, они являются причиной рака у некоторых видов животных. Изучение таких онкогенных вирусов животных позволяет продвинуться в понимании механизмов прогрессирования рака вообще и в обнаружении онкогенов в частности.

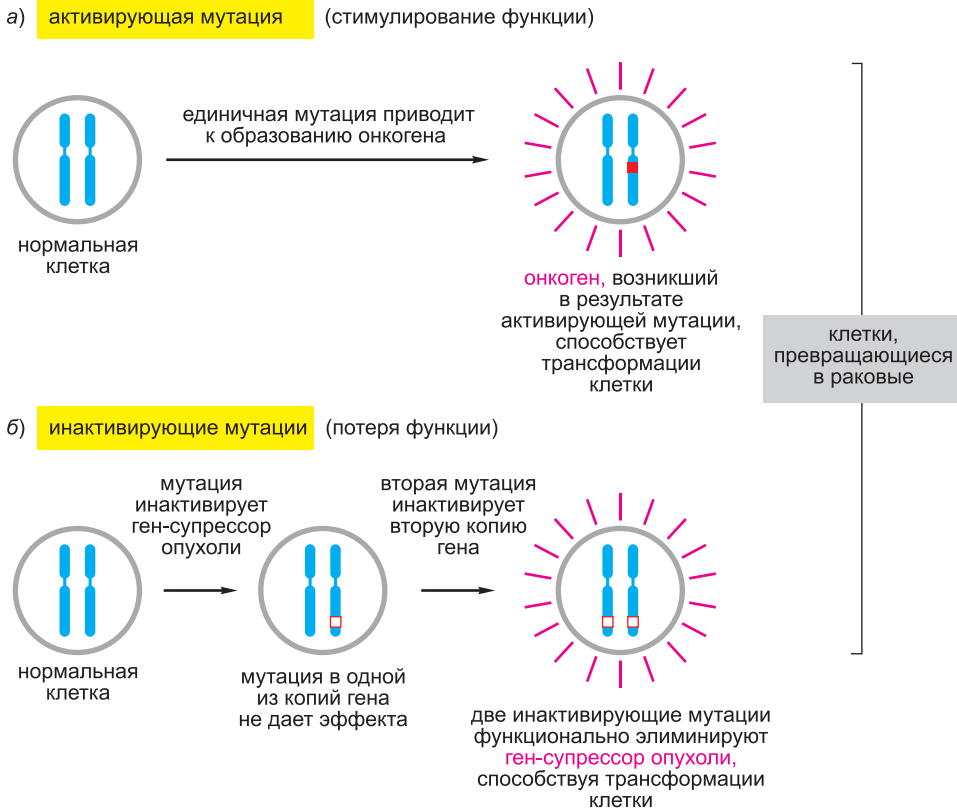


Рис. 20.27. Мутации, вызывающие рак, четко подразделяются на две категории: доминантные и рецессивные. На этой диаграмме активирующие мутации обозначены закрашенными красными прямоугольниками, а инактивирующие — незакрашенными. а) Действие онкогенов доминантно: стимулирующие мутации в одной из копий гена могут превратить клетку в раковую. б) Мутации в генах супрессоров опухоли рецессивны, так как для трансформации клетки в раковую необходимо прекращение функционирования обеих аллелей гена. Хотя на этой схеме вторая копия гена супрессора инактивирована аналогичной мутацией, инактивация часто происходит просто из-за потери второй хромосомы. Кроме того (и это не отображено на рисунке), мутация некоторых генов супрессоров может оказывать влияние даже в случае повреждения лишь одной аллели.

Один из первых вирусов, вызывающих рак, обнаружен примерно 100 лет назад. Этот вирус вызывает опухоли в соединительной ткани у зараженных им кур. Инфицирующий агент идентифицировали как *вирус саркомы Рауса*; теперь мы знаем, что это РНК-содержащий вирус. Подобно всем остальным *РНК-содержащим онкогенным вирусам*, обнаруженным с тех пор, он является **ретровирусом**. При заражении клетки с его РНК снимается ДНК-копия (этот процесс называется обратной транскрипцией), и эта ДНК-копия встраивается в геном хозяина, в составе которого она наследуется следующими поколениями клеток. Вирус саркомы Рауса содержит онкоген, вызывающий рак у кур. Этот онкоген не нужен для выживания или размножения вируса, это показало открытие мутантных форм вируса, которые могли размножаться, не превращая при этом клетку-хозяина в раковую. (Процесс образования раковой клетки из нормальной называется *трансформацией*.) Оказа-

лось, что у некоторых из этих мутантных форм частично или полностью отсутствовал ген, кодирующий белок **Src** (произносится «Сарк»). Другие мутации в этом гене приводили к тому, что трансформирующий эффект начинал зависеть от температуры: зараженные клетки имели трансформированный фенотип при 34 °С, но снова принимали нормальный облик спустя несколько часов инкубации при 39 °С.

Каково же происхождение этого гена? В 1975 г., когда радиоактивно меченую ДНК-копию вирусного гена *Src* использовали в качестве шаблона для поиска сходных последовательностей методом ДНК-ДНК гибридизации (см. рис. 8.36), обнаружили, что геномы клеток позвоночных содержат очень похожие, хотя и не идентичные, последовательности. Вирусный онкоген, очевидно, случайно встроился в вирусный геном; по всей видимости, он принадлежал зараженной вирусом клетке и находился в форме протоонкогена (*c-Src*), а затем, при захвате его вирусным геномом, претерпел мутацию и стал онкогеном (*v-Src*) (рис. 20.28). Так обнаружили, что рак может

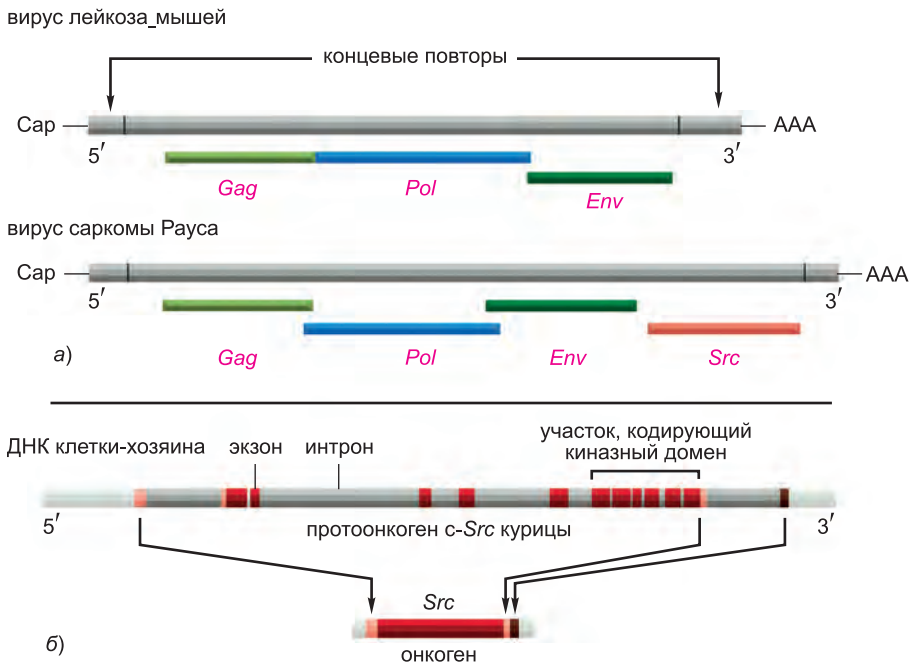


Рис. 20.28. Устройство вируса саркомы Рауса. а) Организация генома вируса в сравнении с геномом более типичного представителя ретровирусов — вируса лейкоза мышей. Вирус саркомы Рауса отличается от других онкоген-содержащих ретровирусов тем, что содержит в целостности и сохранности все три гена, необходимые для осуществления жизненного цикла: Gag (предварительно расщепленная форма его продукта является капсидным белком), Pol (кодирующий обратную транскриптазу и фермент, необходимый для встраивания вирусной ДНК в геном хозяина) и Env (кодирующий белок оболочки). У других ретровирусов один или несколько из этих генов теряются при образовании онкогена. Поэтому трансформирующий вирус может быть вирулентным только в том случае, если клетка одновременно инфицирована нетрансформирующим вирусом-помощником, замещающим утерянные функции. б) Соответствие между *v-Src* онкогеном и клеточным протоонкогеном *Src*, из которого он возник. Интроны *Src* клетки в *v-Src* отсутствуют (они удаляются при сплайсинге); кроме того, в *v-Src* содержатся мутации, изменяющие аминокислотную последовательность белка (не показано), что приводит к гиперактивности белка и невозможности его обычной регуляции (см. рис. 3.69). Экспрессия *v-Src* обычно много выше, поскольку вирус вырабатывает РНК в большом количестве.

быть вызван мутацией в конкретном гене, присутствующем в геноме нормального животного; это значительно расширило поле исследований рака.

С тех пор обнаружено и сходным образом проанализировано большое количество онкогенов, содержащихся в других ретровирусах. В каждом таком случае был идентифицирован соответствующий протоонкоген, присутствующий в нормальных животных клетках.

20.3.3. Результаты разных исследований указывают на один и тот же ген — *Ras*

В то время как одни исследователи искали онкогены в ретровирусах, другие использовали более прямой подход и искали последовательности ДНК в человеческих раковых клетках, которые вызывали бы неуправляемую пролиферацию при введении нормальным нераковым клеткам. В качестве тестового материала чаще всего использовались линии клеток, выведенных от фибробластов мыши. Считают, что эти клетки, заранее отобранные по способности к неограниченному делению в культуре, уже содержат генетические изменения, приближающие их к злокачественным клеткам. Поэтому введения одного онкогена должно быть достаточно для того, чтобы вызвать сильный эффект.

Чтобы определить таким образом онкоген, ДНК выделяют из клеток опухоли, фрагментируют и вводят в культивируемые клетки. Если какой-нибудь фрагмент содержит онкоген, то начинают появляться небольшие колонии аномально пролиферирующих клеток; поскольку клетки, формирующие эти колонии, обладают свойствами, присущими раковым клеткам, их называют трансформированными, или претерпевшими **трансформацию**. Каждая колония представляет собой клон клеток-потомков одной-единственной клетки, в которую проник онкоген, снимающий с нее некоторые из ограничений. Трансформированные клетки, формирующие колонию, размножаются значительно быстрее других клеток и напластываются друг на друга по мере пролиферации (**рис. 20.29**).

Этот метод позволил выделить и секвенировать первый человеческий онкоген, представляющий собой мутантный вариант протоонкогена ***Ras***. На сегодняшний день известно, что ген *Ras* мутирован примерно в каждом пятом случае рака у человека. Открытие человеческого онкогена *Ras* было тем более интригующе, что незадолго до этого мутантный ген *Ras* обнаружили в геноме ретровируса, вызывающего саркому у грызунов, причем именно этот ген был ответственен за образование опухоли. Разумеется, что открытие в начале 1980-х гг. одного и того же онкогена в опухолевых клетках человека и в геноме вируса опухоли животных поразило всех. Осознание того, что причиной рака служат мутации в ограниченном числе особых генов, изменило наше представление о молекулярно-биологических основах этого заболевания.

Как обсуждалось в главе 15, нормальные белки Ras представляют собой мономерные GTPазы, участвующие в передаче сигнала от рецепторов на поверхности внутри клетки. Онкоген Ras, выделенный из опухолевых тканей человека, содержит точечные мутации, делающие белок Ras гиперактивным: такой белок неспособен к самоблокировке при гидролизе связанного GTP до GDP. Ввиду повышения активности белка этот эффект доминантен, то есть для его проявления достаточно изменить лишь одну из двух копий гена. Поскольку ген Ras мутирован во многих формах рака у человека, он остается одним из наиболее важных примеров генов, ответственных за рак.

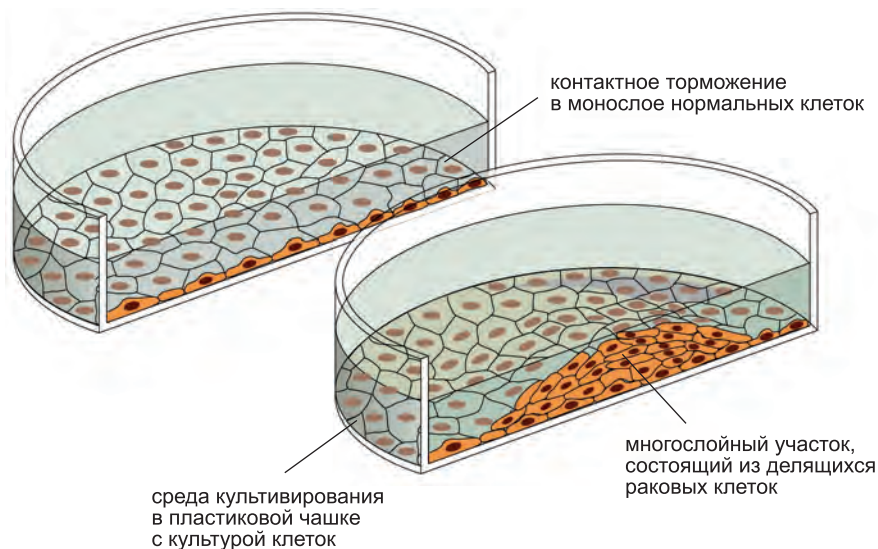


Рис. 20.29. Потеря способности к контактному торможению в культуре клеток. Большинство нормальных клеток перестают делиться, как только они в один слой покрывают дно чашки: похоже, что способность к делению зависит от соприкосновения с чашкой и подавляется при контакте с другими клетками. Это явление называется контактным торможением. Однако на раковые клетки эти ограничения обычно не действуют, и они продолжают размножаться, нагромождаясь друг на друга.

Пользуясь только описанными методами, а также применяя другие подходы, исследователи обнаружили несколько сот протоонкогенов — генов, активирующая мутация в которых превращает их в онкогены, способствующие заболеванию раком.

20.3.4. Гены-супрессоры опухоли впервые обнаружены при исследовании редких наследственных форм опухолей

Чтобы идентифицировать ген, инактивированный в геноме раковой клетки, необходимо применять другие методы, нежели в случае активируемого гена: невозможно, к примеру, использовать метод трансформации клеток для обнаружения того, чего заведомо нет. Основной прорыв в этой области исследований связан с изучением редкой формы рака человека — **ретинобластомы**. Эта опухоль развивается из клеток сетчатки глаза, перешедших в раковое состояние; для этого им требуется необычно малое количество мутаций. Как часто бывает в биологии, к открытию привело исследование частного случая, в ходе которого обнаружили ген, имеющий огромное значение для разных видов рака. Действительно, гены, обнаруженные при изучении редких семейных форм рака, как правило, играют большую роль в распространенных спорадических формах, причем зачастую они выступают в роли супрессоров.

Ретинобластомой заболевают в детстве, и опухоли развиваются из предшественников нейронов в незрелой сетчатке. От этого заболевания страдает примерно один ребенок из 20 000. Одна из форм болезни является наследственной, другие — нет. При наследственной форме множественные опухоли обычно возникают независимо друг от друга в обоих глазах. При ненаследственной форме поражается один глаз и лишь одной опухолью. В некоторых случаях клетки ретинобластомы имеют хорошо

выраженные аномалии кариотипа — в том числе делецию особого фрагмента 13 хромосомы. Наследование этой аномалии обуславливает предрасположенность к болезни. Делеции в этом же участке встречаются также в клетках некоторых пациентов с ненаследственной формой болезни; это свидетельствует о том, что к заболеванию привела потеря важного гена, чей локус находился в этом участке.

Используя данные о локализации этой хромосомной делеции, стало возможно клонировать и секвенировать ген *Rb*. Обнаружено, что у тех, кто страдал от наследственной формы заболевания, во всех соматических клетках отсутствовала одна копия гена *Rb* либо эта копия содержала мутацию, приводящую к снижению активности гена. Эти клетки предрасположены к трансформации, но не становятся раковыми, пока сохраняют действующую копию гена. В раковых клетках сетчатки отсутствуют (или нарушены) обе копии гена *Rb*, так как в них произошла модификация генома, приведшая к потере функционирующей копии гена.

У пациентов с ненаследственной формой болезни, напротив, неопухолевые клетки содержат обе нормальные копии гена *Rb*, а раковые — дефектны по обоим аллелям. Эти ненаследственные формы ретинобластомы очень редки, поскольку для их возникновения необходимы два независимых события, инактивирующих один и тот же ген в двух гомологичных хромосомах (т. е. в паре хромосом № 13) в одном из клонов клеток сетчатки (рис. 20.30). Ген *Rb* также отсутствует в нескольких спо-

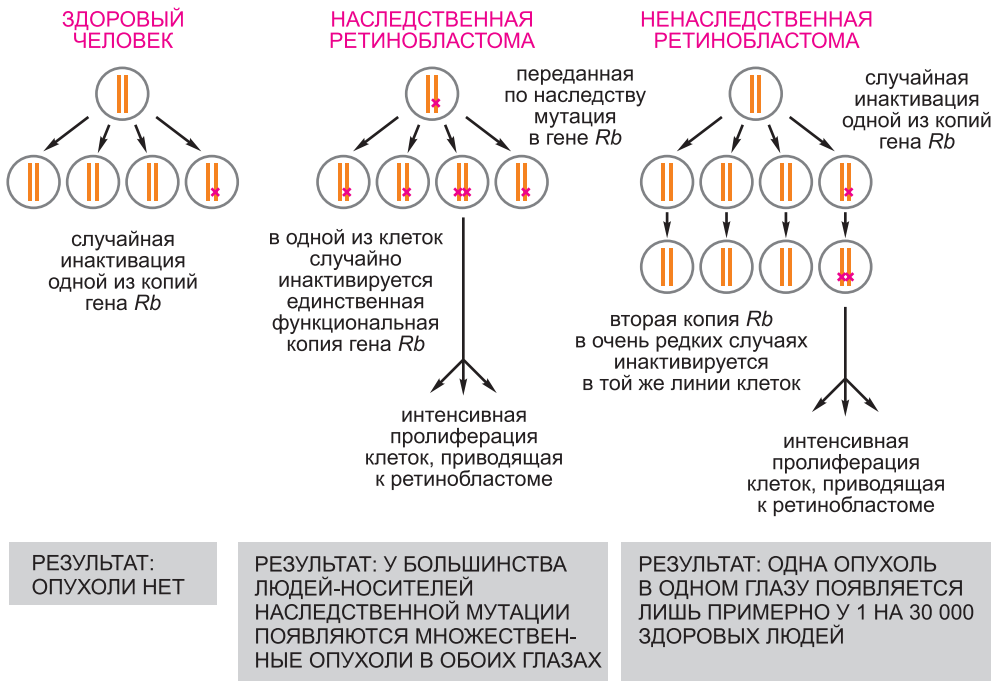


Рис. 20.30. Генетические механизмы возникновения ретинобластомы. При наследственной форме болезни во всех клетках тела одна из двух нормально функционирующих копий гена опухолевого супрессора *Rb* отсутствует, и та клетка, в которой утрачивается или инактивируется оставшаяся копия (в результате мутации или эпигенетической модификации), становится опухолевой. При ненаследственной форме болезни клетки содержат обе функциональные копии, и опухоль возникает там, где обе копии оказываются инактивированными, то есть где в одном клоне клеток дважды происходит генетическое или эпигенетическое изменение.

радикальных формах рака, в том числе в случае карцином легких, молочной железы и мочевого пузыря. Эти более распространенные формы рака обусловлены более длинной цепью генетических изменений, чем в случае ретинобластомы, и проявляются гораздо позже. Однако, по-видимому, для всех этих форм потеря функции *Rb* зачастую является основным шагом к прогрессированию злокачественной опухоли.

Ген *Rb* кодирует белок **Rb**, универсальный регулятор клеточного цикла, присутствующий почти во всех клетках тела (см. рис. 17.62). Он действует как один из основных факторов, тормозящих цикл деления, и, как мы обсудим в дальнейшем, потеря его активности приводит к несанкционированному вступлению в клеточный цикл.

20.3.5. Опухолевые супрессоры могут быть идентифицированы при исследовании самих опухолей

История с геном *Rb* показывает, как редкие наследственные формы рака помогают выявить опухолевые супрессоры, играющие важную роль и в других, более распространенных, случаях. Однако таким образом открыто всего несколько важных генов-супрессоров. Более прямой подход состоит в сравнении опухолевых клеток с нормальными клетками того же пациента, с тем чтобы определить, какие именно из трех миллиардов нуклеотидов, составляющих геном человека, отсутствуют, составляют нарушенную последовательность или незаконно «замалчиваются». Ввиду генетической нестабильности изменений обычно много. Большинство изменений возникло случайно, просто из-за нестабильности генома. Следовательно, критерием истинного гена-супрессора должна служить повторяемость результата — отсутствие гена, его нарушение или сайленсинг — во многих независимых случаях одной и той же формы ракового заболевания. «Выследить» ген-супрессор таким образом — задача трудная, но вполне выполнимая при использовании современных методов широкомасштабного анализа ДНК (см. далее). На сегодняшний момент хорошо охарактеризованы несколько десятков генов опухолевых супрессоров, а еще большее число потенциальных онкосупрессоров изучено недостаточно хорошо.

20.3.6. Инактивация гена опухолевого супрессора может происходить как генетически, так и эпигенетически

Основную опасность представляет собой именно инактивация гена опухолевого супрессора. Она может происходить по-разному вследствие ряда различных причин, ведущих к элиминации или приведению в негодность обеих копий гена. Одна из копий может быть, к примеру, утеряна в результате небольшой хромосомной делеции или инактивирована точечной мутацией. Вторая копия обычно теряется в результате неспецифического, но более вероятного процесса: хромосома, несущая оставшуюся нормальную копию, может быть утрачена в результате неверной сегрегации хромосом либо нормальный ген может быть заменен мутантной формой в результате рекомбинации или конверсии гена.

На рис. 20.31 на примере гена *Rb* показаны возможные пути утраты оставшейся функциональной копии гена-супрессора при изменении последовательности ДНК. Важно отметить, что все механизмы, за исключением точечной мутации, приводят к тому, что в клетке остаются однотипные нуклеотидные последовательности того участка хромосомы, который содержит локус *Rb* гена, — и эти последовательности идентичны последовательности мутантной хромосомы.

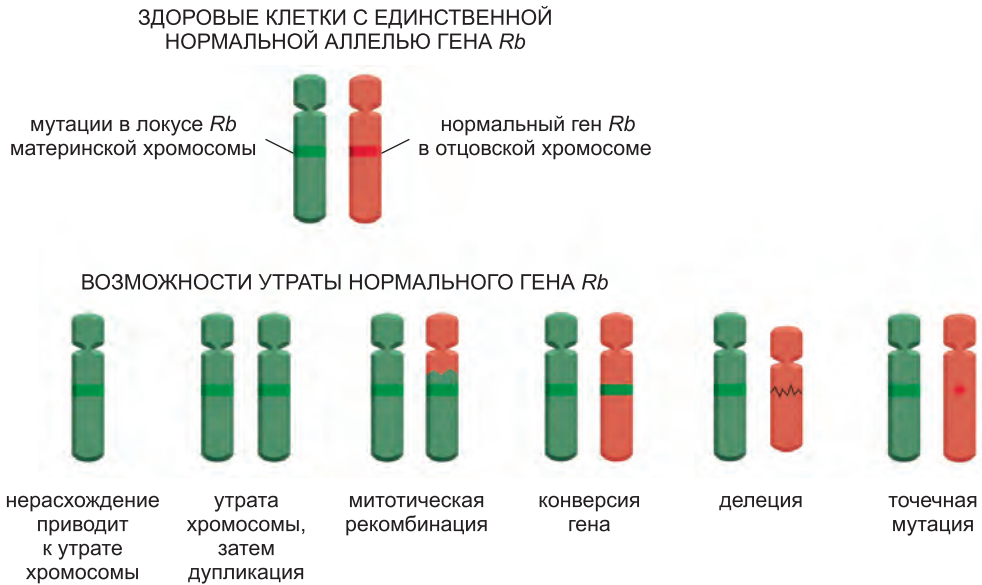


Рис. 20.31. Шесть способов лишиться оставшейся функциональной копии гена-супрессора опухоли. Клетка, у которой нарушена одна из двух копий гена-супрессора (например, гена *Rb*), обычно ведет себя как нормальная, здоровая клетка; на схеме показано, как клетка может утратить оставшуюся функциональную копию гена, начав тем самым превращаться в опухолевую. Седьмая возможность, представленная на рис. 20.32, состоит в подавлении экспрессии гена эпигенетической модификацией, без изменения последовательности ДНК (что часто и происходит с некоторыми генами-супрессорами). (По W. K. Cavenee et al., *Nature* 305: 779–784, 1983. С разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

Как обсуждалось в главе 4, благодаря нормальной изменчивости отцовские и материнские хромосомы различимы. В среднем последовательности ДНК гомологичных хромосом различаются каждым тысячным нуклеотидом (такова степень нашей гетерозиготности). Там, где большой фрагмент хромосомы утерян либо заменен на фрагмент, идентичный соответствующему участку гомологичной хромосомы, имеет место потеря гетерозиготности (*loss of heterozygosity, LOH*): остается лишь один вариант нуклеотидной последовательности этого участка. В рамках проекта «Геном человека» на карту хромосом нанесены миллионы участков гетерозиготности. Каждый из этих участков представлен полиморфной последовательностью ДНК — то есть такой последовательностью, которая представлена в человеческой популяции двумя или более вариантами. Имея в руках образец ДНК опухоли, можно проверить, какой из вариантов присутствует в данном случае. То же самое можно сделать, для сравнения, с образцом ДНК нераковой клетки того же пациента. Потеря гетерозиготности в участке генома, содержащем один или более полиморфных сайтов, или утрата маркерной последовательности, присутствующей в нераковой контрольной ДНК, может указывать местоположение хромосомного участка, содержащего ген опухолевого супрессора. Однако ввиду генетической нестабильности раковые клетки обычно показывают потерю гетерозиготности во многих хромосомных участках. Поэтому в таком методе обнаружения генов-супрессоров опухоли постоянно приходится отсеивать случайный шум.

Эпигенетические изменения также могут играть большую роль в инактивации генов-супрессоров. В большинстве случаев это упаковка гена в гетерохроматин и наследуемое метилирование С-нуклеотидов в последовательностях CpG в промоторе гена (рис. 20.12). Так можно заставить ген навсегда замолчать в самой клетке и в ее потомках. Имея в руках перечень возможных опухолевых супрессоров, относительно просто проверить их промоторы на аномально высокий уровень метилирования ДНК. Данные подобных исследований говорят о том, что прекращение экспрессии гена довольно часто происходит в ходе опухолевой прогрессии, а эпигенетические механизмы на сегодняшний день признаны инактиваторами нескольких различных опухолевых супрессоров в большинстве форм рака у человека (рис. 20.32).

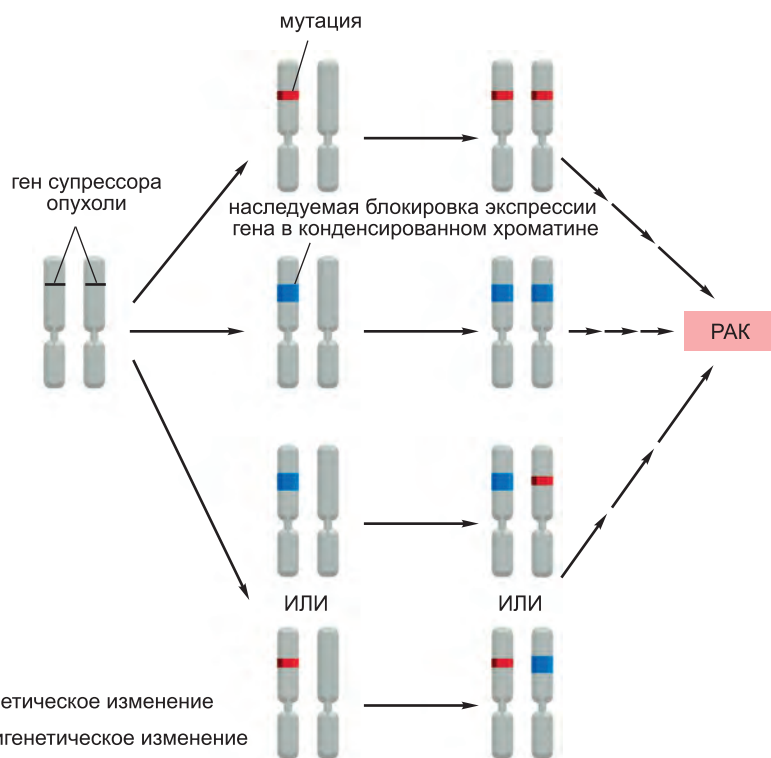


Рис. 20.32. Генетические и эпигенетические изменения, лишаящие клетку активности опухолевого супрессора и вызывающие рак. Как обсуждалось в главе 4, конденсация хроматина может блокировать экспрессию гена, причем склонность к этому передается от материнской клетки к дочерним (см. рис. 4.52). Как отмечено ранее, изменения, останавливающие экспрессию гена супрессора, могут происходить в любом порядке.

20.3.7. Активность мутантных генов в раковых клетках может повышаться многими способами

В случае протоонкогенов рак вызывает активация гена. На рис. 20.33 суммированы возможные пути конверсии протоонкогена в онкоген. 1) Небольшое изменение последовательности ДНК, например точечная мутация или делеция, может привести к образованию гиперактивного белка, если оно произошло в кодирующей части, или

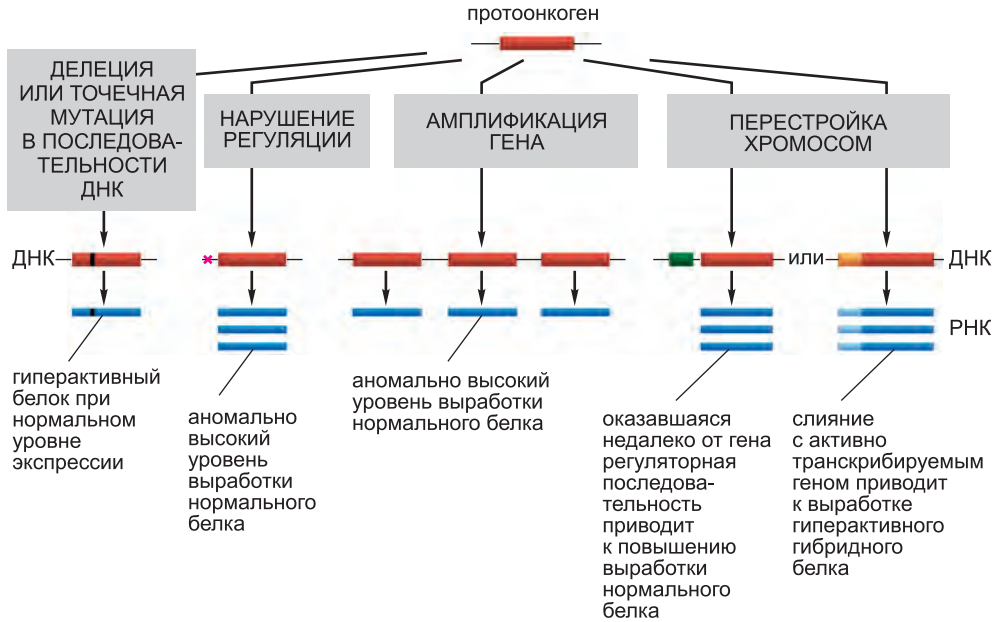


Рис. 20.33. События, в результате которых протоонкоген становится более активным и превращается в онкоген.

к повышению выработки белка, если изменение произошло в регуляторном участке. 2) Амплификация гена, в том числе произошедшая в результате ошибок репликации ДНК, приводит к образованию дополнительных копий гена; это, в свою очередь, приводит к повышенной выработке белка (рис. 20.34). 3) Хромосомные перестройки, в том числе разрывы и сшивки спирали ДНК, могут изменять кодирующий либо регуляторный участок, приводя соответственно к выработке гиперактивного белка или к повышенной выработке нормального белка.

Специфические аномалии характеризуют конкретные гены и ответные реакции на конкретные канцерогены. Например, в 90% кожных опухолей, вызванных у мышей втиранием инициатора канцерогенеза диметилбензантрацена (ДМБА), обнаружена замена нуклеотида А на Т в одном и том же сайте в гене *Ras*; предположительно, из многих мутаций, вызванных действием ДМБА, именно эта замена ответственна за стимуляцию роста опухоли.

Рецептор *эпидермального фактора роста (EGF)*, внеклеточного сигнального белка, напротив, может быть активирован делецией, в результате которой утрачивается часть его внеклеточного домена. Такие мутантные рецепторы способны формировать активные димеры даже в отсутствие EGF и посылать ложный стимулирующий сигнал, подобно сломанному дверному звонку, который звонит, даже если никто не жмет на кнопку. Мутации такого типа обнаружены в клетках наиболее распространенной раковой опухоли мозга человека — глиобластомы.

С другой стороны, белок Мус обычно способствует развитию рака ввиду избыточной выработки нормальной формы. Этот белок локализуется в ядре и стимулирует рост и деление клетки (см. главу 17); так, клетка, вырабатывающая избыточное количество белка Мус, приступает к делению даже в тех условиях, когда нормальная клетка останавливает клеточный цикл. К избыточной выработке белка

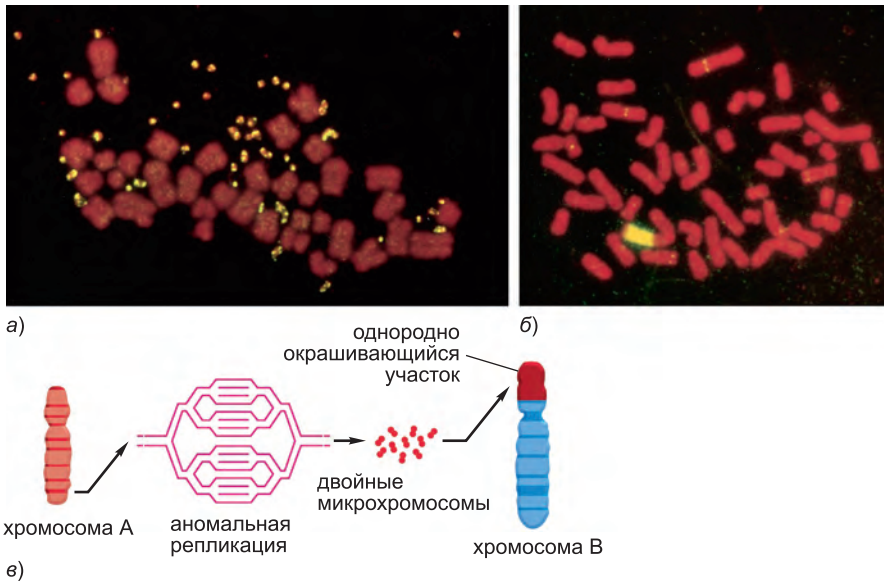


Рис. 20.34. Хромосомные перестройки в раковых клетках, к которым приводит амплификация гена. Представлен случай, когда несколько копий гена протоонкогена *Мус* амплифицированы. Амплификация онкогенов очень характерна для карцином; часто она приводит к любопытному изменению кариотипа: клетка как будто содержит дополнительные пары миниатюрных хромосом — так называемые *двойные минихромосомы* — либо одна из ее нормальных хромосом, приобретающих полосатый вид при окрашивании, содержит *однородно окрашивающийся* участок. В обоих случаях эти аномальные структуры состоят из огромного количества копий небольшого сегмента генома. На рисунке хромосомы окрашены красным флуоресцентным красителем, а множественные копии гена *Мус* выявлены методом гибридизации *in situ* с *желтым* флуоресцентным зондом. *а)* Кариотип клетки, в которой копии гена *Мус* представлены в виде *двойных минихромосом* (парные *желтые пятнышки*). *б)* Кариотип клетки, в которой копии гена *Мус* представлены однородно окрашивающимся (в *желтый цвет*) участком одной из обычных хромосом. (Обычным копиям гена *Мус* соответствуют *желтые точки*, разбросанные по разным хромосомам.) *в)* Диаграмма, иллюстрирующая процесс амплификации. Считается, что в редких случаях нарушения репликации ДНК приводят к образованию хромосомы, в которой какой-то участок повторен многократно. В результате репарации этой структуры получают замкнутые на себя фрагменты ДНК, которые при репликации дают длинные тандемно повторяющиеся последовательности, образующие *двойные минихромосомы*. В результате другого редкого события ДНК одной из таких хромосом может встроиться в нормальную хромосому, образуя на ней однородно окрашивающийся участок. Амплификация может происходить и по-другому (см. рис. 20.41). (*а* и *б* — с любезного разрешения Denise Sheer.)

Мус могут приводить разные обстоятельства. В некоторых случаях ген оказывается амплифицированным, то есть ошибки репликации ДНК приводят к тому, что в клетке оказывается множество копий одного и того же гена (см. рис. 20.34). Чаще причиной повышенной выработки являются изменения в регуляторном элементе, влияющем на ген. Например, в результате хромосомной транслокации мощный регуляторный участок может случайно оказаться рядом с участком, кодирующим белок *Мус*, что приведет в производству чрезвычайно большого количества *Мус*-мРНК. Так, в случае лимфомы Бёркита (новообразование из В-клеток, часто встречается в Центральной Африке, реже — в США) транслокация помещает ген *Мус* под контроль последовательности, которая в норме управляет экспрессией

генов антител в В-лимфоцитах. В результате этого мутантные В-клетки ускоренно пролиферируют и формируют опухоль. Аналогичные хромосомные транслокации имеют место и в других лимфомах и лейкозах.

20.3.8. Охота на гены, ответственные за рак, продолжается

Расшифровка человеческого генома открыла новые возможности систематического обнаружения генов, опосредующих развитие рака. Сейчас, благодаря разработке методов автоматического анализа геномной ДНК или матричной РНК, в принципе, стало возможным напрямую сравнить каждый из 25 000 генов раковой клетки с генами нормальной клетки и провести такой анализ в ряде случаев заболевания одной и той же формой рака, с тем чтобы выявить потенциально важные аномалии. Анализируя таким образом многие формы рака, мы должны, в конце концов, идентифицировать все гены, мутации которых часто встречаются в раковых клетках человека. Несмотря на дороговизну таких экспериментов, широко-масштабные проекты по секвенированию ДНК с целью найти новые человеческие онкогены уже начались и дают первые результаты. Например, обнаружено, что гиперактивная форма протеинкиназы Raf (см. главу 15) очень часто встречается в меланоме и реже — в других формах рака.

Однако прямое секвенирование ДНК — не единственный способ решить поставленную задачу. Разработаны и другие мощные методы идентификации онкогенов и генов-супрессоров, которые, возможно, окажутся более эффективными. Три из них представляются наиболее перспективными:

1. В *методе сравнительной геномной гибридизации* используют флуоресцентное мечение фрагментов ДНК, выделенной из нормальных и раковых клеток, чтобы выявить участки генома, в которых произошла амплификация либо утрата генетического материала (**рис. 20.35**). Затем проводят гибридизацию этих фрагментов с микроматрицей ДНК, в которой каждая лунка соответствует определенному положению в геноме. Различные точки флуоресцируют разными цветами согласно соотношению фрагментов нормальной ДНК и ДНК раковой клетки. Таким образом, можно указать участки генома раковой клетки, которые были амплифицированы или утрачены. Затем можно осуществить более целенаправленный поиск генов в тех участках, которые определили на прошлом этапе;
2. Микроанализ также можно использовать при выявлении специфических для раковых заболеваний изменений характера экспрессии. В этом случае в качестве образца, с которым проводят гибридизацию, используют не хромосомную ДНК, а матричную РНК;
3. Наконец, недавно разработанный метод широкомасштабного генетического скрининга, основанного на технологии РНК-интерференции, представляет собой мощный функциональный подход к изучению генов опухолевых супрессоров. Малые интерферирующие РНК (siRNA) могут прямо в клетке инактивировать обе копии гена, привести к разрушению соответствующей мРНК либо ингибировать трансляцию определенного белка (см. главу 8, раздел 5.16). Такой подход может оказаться очень эффективным при определении гена-супрессора, утрата функции которого стимулирует трансформации клетки конкретного животного или конкретной исследуемой линии.

Независимо от того, какой подход используется, труднее всего определить, действительно ли обнаруженный ген имеет отношение к прогрессированию рака.

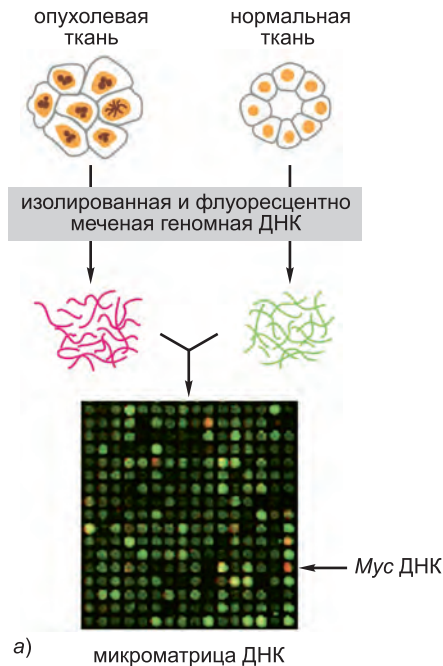
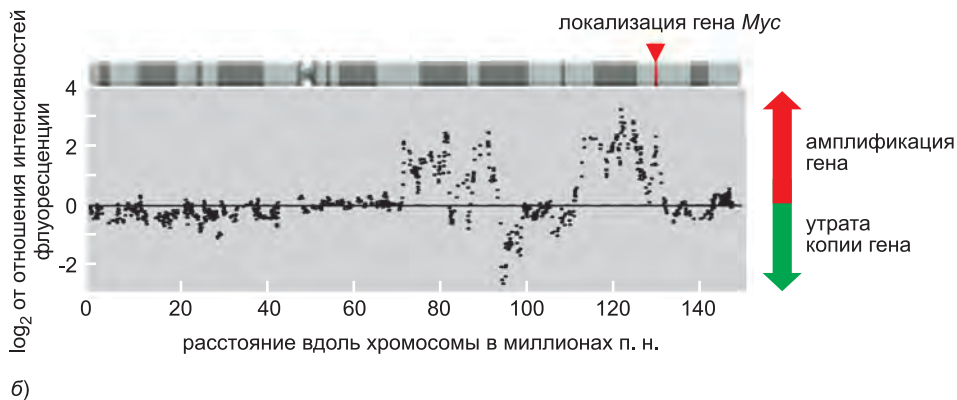


Рис. 20.35. Сравнительная геномная гибридизация, позволяющая детектировать изменения ДНК в опухолевых клетках. а) Фрагменты ДНК из опухолевых и нормальных клеток метят двумя флуоресцентными метками (опухолевые — *красной*, нормальные клетки контрольной пробы — *зеленой*), после чего проводят гибридизацию с микроматрицей ДНК, каждая лунка которой соответствует определенному положению в нормальном геноме. б) На графике представлено отношения интенсивностей красной и зеленой флуоресценции в каждой точке. Это соотношение позволяет выявить участки генома опухолевых клеток, в которых произошла амплификация либо делеция: *красный* сигнал говорит об амплификации, *зеленый* — об утрате копии гена.



В этом могут помочь эксперименты по усилению экспрессии предполагаемого онкогена или подавлению активности предполагаемого гена-супрессора в культуре клеток. Однако наиболее убедительными являются эксперименты на мышах, чьи клетки в избытке вырабатывают продукт предполагаемого онкогена, либо на мышах, нокаутных по предполагаемому гену-супрессору. В обоих случаях, если гены действительно способствуют заболеванию, то развитие раковой опухоли должно заметно стимулироваться.

При поиске новых генов, опосредующих развитие рака, нам совершенно необязательно с самого начала представлять себе их функцию или то, каким именно образом их изменение может способствовать заболеванию раком. Однако по мере накопления наших знаний становится проще «угадать», какой ген можно заподозрить в связи с раковым заболеванием, а затем напрямую проверить нашу догадку, особенно если

этот ген часто мутирован в раковых клетках. Таким образом, поиск новых генов тесно связан с выяснением их нормальной функции и ее нарушений, способствующих трансформации клетки в раковую. Об этом мы поговорим в следующем разделе.

Заключение

Гены, ответственные за развитие рака, можно разбить на две группы. В первую группу входят гены, повышение активности которых стимулирует развитие опухоли, во вторую — те гены, в случае которых к аналогичному эффекту приводит утрата или снижение активности. Мутации, приводящие к повышению активности гена, стимулируют деление клеток в условиях, при которых нормальные клетки не делятся; мутации, снижающие экспрессию гена-супрессора (или активность белка-супрессора) опухолей, отменяют ингибирующие влияния, которые обычно держат деление клетки под контролем. Онкогены доминантны, и многие из них впервые открыты из-за того, что они вызывали рак у животных, зараженных ретровирусом, который содержал этот ген; предполагают, что протоонкоген клетки-хозяина случайно захватил геном ретровируса, мутировав при этом в онкоген. Онкогены могут также возникать в результате специфических хромосомных aberrаций, активирующих протоонкоген.

Мутации опухолевых супрессоров обычно рецессивны, так как клетки ведут себя нормально до тех пор, пока обе копии гена не будут утрачены или инактивированы, либо их экспрессия будет подавлена эпигенетически. Несколько таких генов впервые обнаружено в редких наследственных формах рака, однако их утрата или инактивация, как оказалось, характерна и для спорадических форм. Люди, унаследовавшие одну мутантную копию гена опухолевого супрессора, более предрасположены к раковым заболеваниям, поскольку единственного изменения в любой клетке организма, приводящего к утрате или инактивации оставшейся функциональной копии гена, будет достаточно, чтобы полностью лишить клетку активности гена-супрессора.

Поиск генов, ответственных за развитие рака, продолжается; разрабатываются все более мощные технологии систематического анализа ДНК и мРНК раковых клеток, позволяющие идентифицировать важные мутации и изменения характера экспрессии. Участие найденного гена в развитии рака может быть проверено на мышах: в случае предполагаемого онкогена экспрессию необходимо искусственно повысить, а в случае предполагаемого онкосупрессора ген-мишень нужно инактивировать.

20.4. Молекулярные основы поведения раковых клеток

Исследователь, стремящийся обнаружить гены раковых заболеваний, вынужден применять различные подходы для идентификации онкогенов и генов-супрессоров (а также их мутаций и эпигенетических изменений), однако для раковой клетки это две стороны одной медали. Изменения в генах, принадлежащих разным классам, могут оказывать одно и то же влияние на поведение раковой клетки, так как большинство клеточных механизмов управления включают стимулирующий (протоонкогены) и ингибиторный (супрессоры опухолей) компоненты. Если цель состоит в том, чтобы на молекулярно-генетическом уровне понять, как функционируют раковые клетки, то важно различие не между онкогенами и генами-супрессорами, а между генами, отвечающими за различные биохимические и регуляторные пути.

Некоторые из этих путей, важные для развития рака, передают сигналы от окружения клетки (см. главу 15), другие отвечают за внутренние программы клетки, в том числе за контроль клеточного цикла (глава 17) и клеточную смерть (глава 18). Среди прочих — механизмы, управляющие движением клеток (глава 16) или механическими взаимодействиями с соседними клетками (глава 19). Различные пути сложным образом связаны между собой. Много из того, что нам известно про них, почерпнуто в исследованиях раковых заболеваний; и наоборот, фундаментальные исследования в области клеточной биологии изменили наше представление о раке.

В первом разделе этой главы мы в общих чертах описали свойства, делающие клетку раковой, и перечислили характерные поведенческие аномалии раковых клеток. В настоящем разделе мы рассмотрим, как мутации в некоторых генах обуславливают эти аномалии и как исследования раковых заболеваний могут помочь при изучении функции отдельных белков. В конце главы мы рассмотрим последовательность генетических изменений на примере рака толстой кишки и покажем, как эти изменения заставляют опухоль сменить одну аномальную линию поведения на другую, еще более пагубную.

20.4.1. Эксперименты на эмбрионах и на генетически модифицированных мышах позволили выяснить функцию генов, связанных с раком

Имея дело с некоторым геном, мутантным в раковых клетках, нам нужно определить, какова функция этого гена в нормальных клетках и каким образом мутация в этом гене способствует аномальному поведению раковой клетки. Например, когда начинались эксперименты по клонированию гена *Rb*, о нем было известно лишь, что он содержится в мутантной форме в клетках ретинобластомы. Сведения о гене *Ras* ограничивались тем, что он заставляет клетки интенсивно пролиферировать, однако его функция в нормальных клетках оставалась загадкой. В обоих случаях исследования рака послужили отправной точкой для работ, в которых выявили ключевую роль этих белков в нормальных клетках: *Rb* — ингибитор клеточного цикла и *Ras* — основной компонент нескольких внутриклеточных сигнальных путей.

Сегодня мы многое знаем о клетках, так что при обнаружении причастности того или иного гена к раковым заболеваниям зачастую оказывается, что этот ген уже изучался в другом контексте. К примеру, многие онкогены и опухолевые супрессоры гомологичны генам, участвующим в эмбриональном развитии. В качестве примеров можно привести также почти все основные пути коммуникации клеток в процессе развития (см. главы 15 и 22): сигнальные пути с участием *Wnt*, *Hedgehog*, *TGFβ*, *Notch* и рецепторных тирозинкиназ включают в себя компоненты, кодируемые генами, вовлеченными в развитие рака (*Ras* участвует в последнем из перечисленных сигнальных путей).

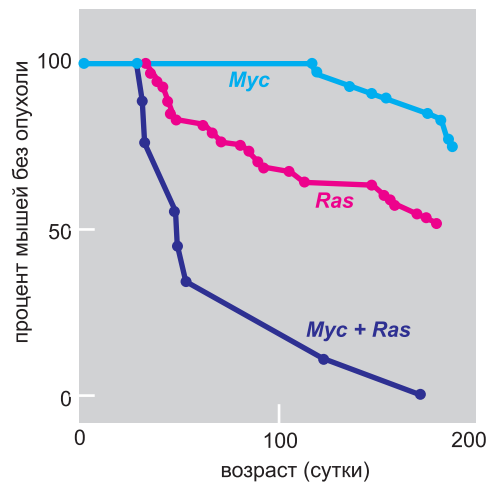
При взгляде в прошлое это уже не кажется удивительным. Как мы будем обсуждать в главе 23, сигнальные механизмы, контролирующие эмбриональное развитие, действуют и в теле взрослого, следя за обновлением клеток и поддерживая гомеостаз. Как развитие многоклеточного животного, так и гомеостаз взрослого организма зависят от межклеточных коммуникаций и регуляции роста клеток, их деления, дифференцировки, смерти, движения и адгезии — другими словами,

от всех поведенческих аспектов, которые нарушаются у раковых клеток. Таким образом, биология развития, основываясь зачастую на исследованиях дрозофилы и *C. elegans*, дает полезные сведения о нормальном функционировании многих генов, связанных с раковыми заболеваниями.

Но мы в конечном счете хотим знать, как влияют изменения в этих генах на клетку, становящуюся раковой. Некоторые сведения можно почерпнуть, исследуя клеточные культуры или изучая опухолевые образцы, взятые у пациентов. Но для того, чтобы понять, каким образом мутации в генах, ответственных за развитие рака, влияют на ткани в составе целого организма, необходимо ставить эксперименты на трансгенных и нокаутных мышах.

Трансгенных мышей, у которых в каждой клетке содержится онкоген, можно вывести с помощью метода, описанного в главе 8. Онкогены, введенные таким образом в клетки, могут экспрессироваться во многих тканях или лишь в нескольких избранных тканях, в зависимости от того, какая регуляторная последовательность ДНК ассоциирована с данным трансгеном. Исследования на таких мышях показывают, что одного онкогена, как правило, недостаточно для трансформации нормальной клетки в раковую. Обычно у мышей, вырабатывающих онкоген *Myc* или *Ras*, в некоторых тканях наблюдается усиленная пролиферация клеток, и спустя некоторое время какая-нибудь из этих клеток накопит дополнительные изменения и даст начало раковой опухоли. Однако большинство клеток, экспрессирующих трансген, не становятся раковыми. Тем не менее с точки зрения животного в целом унаследованный онкоген — серьезная проблема, поскольку он резко увеличивает риск возникновения раковой опухоли в какой-нибудь ткани организма. У мышей, экспрессирующих оба онкогена *Myc* и *Ras* (полученных скрещиванием трансгенных мышей, вырабатывающих эти онкогены по отдельности), рак развивается гораздо раньше и чаще, чем в любой родительской линии (рис. 20.36); но опять же рак развивается в виде разбросанных по организму отдельных опухолей. То есть

Рис. 20.36. Онкогены трансгенных мышей взаимно усиливают свое действие. На графике приведена частота опухоли у трансгенных мышей трех линий. В первой линии геном содержал онкоген *Myc*, во второй — *Ras*, а в геноме мышей третьей линии входили оба онкогена. Сначала создали первые две линии мышей. Онкоген, содержащийся в геноме мышей первой линии, получен путем слияния протоонкогена *Myc* с регуляторной последовательностью ДНК вируса молочных желез мышей (это приводит к повышенной экспрессии гена *Myc* в клетках молочных желез). Онкоген *Ras* получен аналогично. У мышей из обеих групп опухоли появлялись намного чаще обычного, в основном в молочных или слюнных железах. Мыши, геном которых содержал оба гена, получены путем скрещивания мышей первых двух линий. У этих гибридных мышей опухоли возникали еще чаще, частота их появления намного превышала суммарный показатель первых двух линий. Тем не менее опухоли появлялись с задержкой и происходили от небольшой группы клеток в тканях, экспрессирующих оба гена. Для развития настоящей раковой опухоли были необходимы дальнейшие случайные изменения. (По E. Sinn et al., *Cell* 49: 465–475, 1987. С разрешения издательства Elsevier.)



даже клетки, экспрессирующие оба онкогена, должны претерпеть дальнейшие изменения, чтобы стать раковыми. Этот вывод подтверждают и другие исследования (см. далее).

Известны также многочисленные эксперименты на мышах, нокаутных по различным опухолевым супрессорам, в том числе *Rb*. Как и ожидалось, многие из этих мышей, у которых отсутствовала одна из копий гена-супрессора, были подвержены раковым заболеваниям, и развивающиеся опухоли часто показывали потерю гетерозиготности — то есть утрачивали или инактивировали вторую копию гена. Делеция обеих копий гена часто приводила к смерти на стадии зародыша, что отражает существенную роль этих генов в нормальном развитии. Чтобы обойти эту проблему и определить влияние гомозиготных мутаций на ткань взрослого животного, нужно вывести мышь, несущую условную мутацию (см. рис. 5.79), чтобы генетический дефект проявлялся лишь в одном органе (скажем, печени) или в одной ткани. Другой вариант состоит в том, чтобы дефект проявлялся в ответ на экспериментальный сигнал (препарат), даваемый в определенное время. При использовании этих методов опыты на мышах не только дают ценную информацию о механизмах формирования опухоли, но и служат модельным объектом, на котором можно тестировать и разрабатывать новые виды терапии рака.

20.4.2. Многие гены, ответственные за развитие рака, регулируют деление клеток

Многие гены, участвующие в развитии рака, кодируют компоненты сигнальных путей, определяющих общественное поведение животных клеток: рост, деление, дифференцировку и смерть (рис. 20.37). В действительности многие из участников этих сигнальных путей впервые идентифицированы при поиске генов, ответственных за рак, а полный список белков, кодируемых протоонкогенами и генами опухолевых супрессоров, содержит примеры сигнальных белков практически всех типов: секретируемые белки, трансмембранные рецепторы, внутриклеточные GTP-связывающие белки, протеинкиназы, регуляторы экспрессии генов и многие другие. Мутации в раковых клетках модифицируют эти компоненты таким образом, что они посылают сигналы к пролиферации даже тогда, когда они не нужны; это не санкционированным образом запускает рост клетки, репликацию ДНК и деление клеток. В качестве примера можно привести мутацию, активирующую рецептор EGF и белок Ras (см. выше).

Компоненты сигнальных путей, которые в норме ингибируют деление клеток, часто оказываются опухолевыми супрессорами. Например, хорошо описана роль в этих процессах сигнального пути TGF β (см. главу 15). Инактивирующие мутации участников этого пути опосредуют развитие нескольких форм рака у человека. Так, в некоторых формах рака толстой кишки мутирован рецептор TGF β -RII, а в раковых клетках поджелудочной железы и некоторых других органах модифицирован Smad4 — ключевой внутриклеточный сигнальный белок. Эти находки свидетельствуют о том, что TGF β -путь в норме ограничивает клеточное деление (см. рис. 23.26).

Неудивительно, что мутации, напрямую связанные с клеточным циклом, оказываются характерными для многих форм рака. Опухолевый супрессор Rb непосредственно управляет вступлением в клеточный цикл. Rb работает как ограничитель, не позволяя клетке вступить в S-фазу; он связывает белок из семейства E2F, необ-

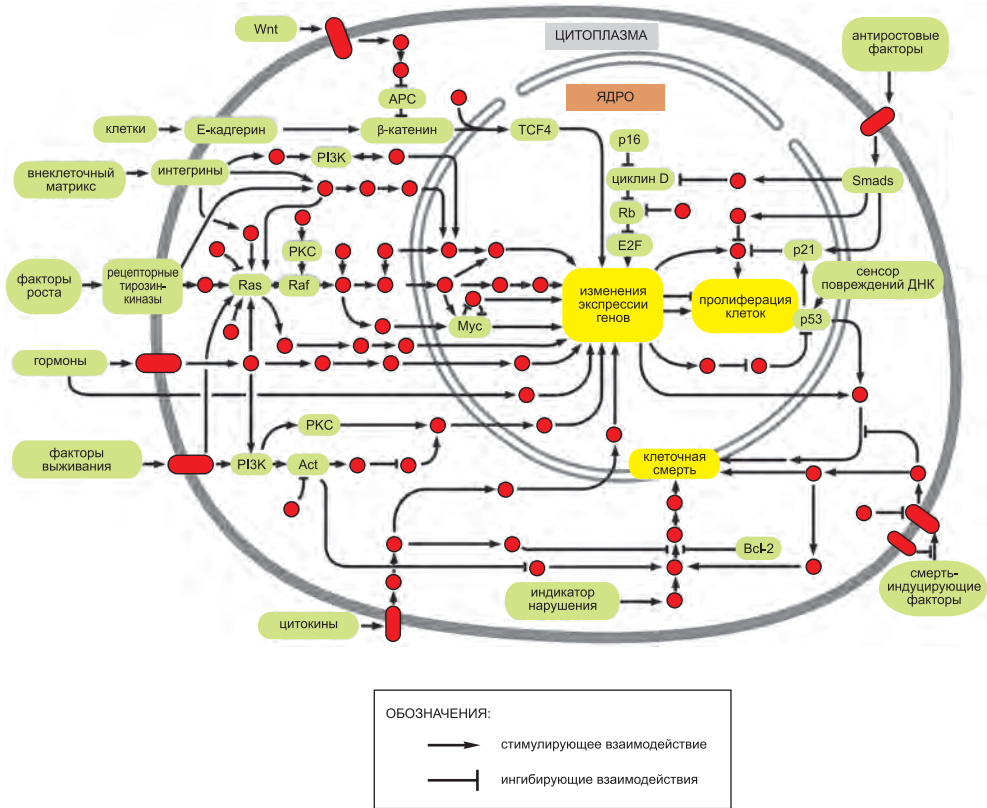


Рис. 20.37. Схема основных сигнальных путей, задействованных при развитии рака у человека, показывающая локализацию некоторых белков, мутация в генах которых приводит к раку. Нередко продукты онкогенов и генов опухолевых супрессоров участвуют в одном и том же сигнальном пути. Отдельные сигнальные белки помечены красными кружками, а участвующие в развитии раковой опухоли компоненты и регуляторные механизмы, обсуждаемые в этой главе, выделены зеленым. (Из D. Hanahan and R. A. Weinberg, *Cell* 100: 57–70, 2000. С разрешения издательства Elsevier.)

ходимый для транскрипции генов, которые кодируют белки S-фазы. В норме активность белка Rb регулируется путем фосфорилирования циклин-зависимыми киназами (Cdk), в результате которого он отсоединяется от E2F-белка (см. главу 17).

Многие раковые клетки начинают несанкционированно делиться в результате полной утраты гена Rb. Другие клетки достигают того же эффекта, накапливая мутации, затрагивающие другие компоненты регуляторного пути Rb (рис. 20.38). В норме комплекс циклина D с циклин-зависимой киназой Cdk4 (G_1 -Cdk) фосфорилирует Rb, позволяя клетке продолжить цикл (см. рис. 17.62 и таблицу 17.1, стр. 1756). Белок $p16^{INK4}$, который вырабатывается в ответ на стрессорное воздействие, ингибирует клеточный цикл, предотвращая формирование активного комплекса циклин D–Cdk4. Таким образом, этот компонент в норме выполняет очень важную функцию, останавливая клеточный цикл в ответ на стресс. В некоторых глиобластомах и раковых опухолях молочной железы амплифицированы гены, кодирующие Cdk4 или циклин D, в результате чего стимулируется пролиферация

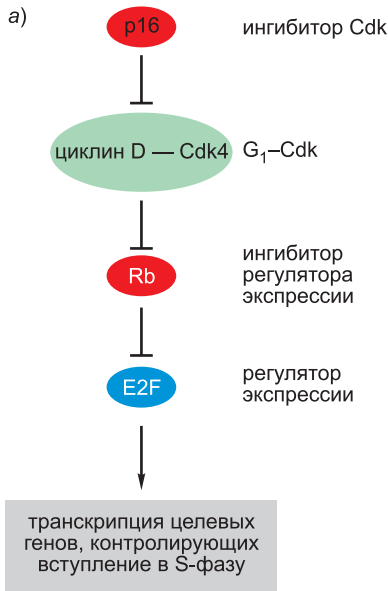
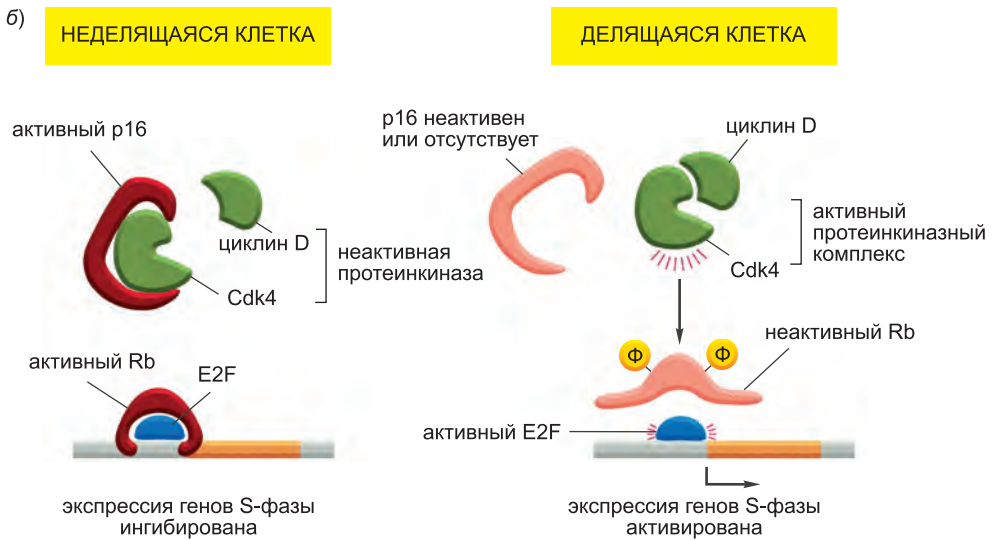


Рис.20.38. Rb-путь регуляции клеточного деления включает как протоонкогены, так и опухолевые супрессоры. Мутации, приводящие к дефекту каждого из участников этого регуляторного механизма, обнаружили в какой-либо раковой опухоли человека. Продукты протоонкогенов обозначены зеленым, продукты генов-супрессоров — красным; E2F выделен синим цветом, поскольку он может оказывать и ингибиторное, и стимулирующее действие в зависимости от того, с каким белком он связан. В большинстве опухолей мутация затрагивает лишь один из компонентов. а) Упрощенная цепочка влияния участников этого регуляторного пути друг на друга; более подробно см. рис. 17.62. б) Белок Rb в нефосфорилированной форме препятствует вступлению в цикл клеточного деления. Комплекс Cdk4 с циклином D фосфорилирует Rb, запуская пролиферацию. Если клетка находится в стрессовом состоянии, белок $p16^{Ink4}$ ингибирует образование активного комплекса Cdk4-циклин D, предотвращая деление. Делению клетки способствует мутация, инактивирующая Rb или $p16^{Ink4}$ (поэтому оба этих фактора могут рассматриваться как опухолевые супрессоры), либо повышенная активность Cdk4 или циклина D (стало быть, их гены являются протоонкогенами).



клеток. Кроме того, во многих формах рака обнаружена делеция или инактивированная форма гена, кодирующего *p16*; часто подавление экспрессии этого гена достигается метилированием его регуляторного участка — пример эпигенетического изменения, способствующего развитию рака. Мутации, затрагивающей хотя бы один из компонентов заданного сигнального пути, достаточно, чтобы инактивировать весь путь и стимулировать раковое заболевание. Поэтому, как и следует ожидать, в раковых клетках редко встречаются множественные мутации, затрагивающие один и тот же сигнальный путь: это не принесло бы никаких дополнительных эволюционных преимуществ.

20.4.3. В раковых клетках за нарушения регуляции клеточного цикла и роста могут отвечать разные механизмы

Как описано в главе 17, в клетке особая система следит за тем, чтобы каждая хромосома удвоилась и чтобы в одну дочернюю клетку попала лишь одна копия хромосомы. Для запуска деления необходим специальный сигнал, так как по умолчанию клетка покоится, находясь в стадии G_0 (см. главу 17, раздел 6.2). Но чтобы клетка смогла поделиться, недостаточно лишь инициировать клеточный цикл; нужно еще, чтобы клетка росла, а это связано с запуском сложных процессов синтеза необходимых макромолекул из низкомолекулярных предшественников. Если клетка делится, предварительно не увеличиваясь в размерах, она с каждым делением становится все меньше и меньше и в конце концов вынуждена прервать цикл деления или даже погибнуть. Поэтому успешный рост раковой опухоли требует не только нарушения регуляции клеточного цикла, но и наследственных изменений, стимулирующих рост клетки (рис. 20.39).

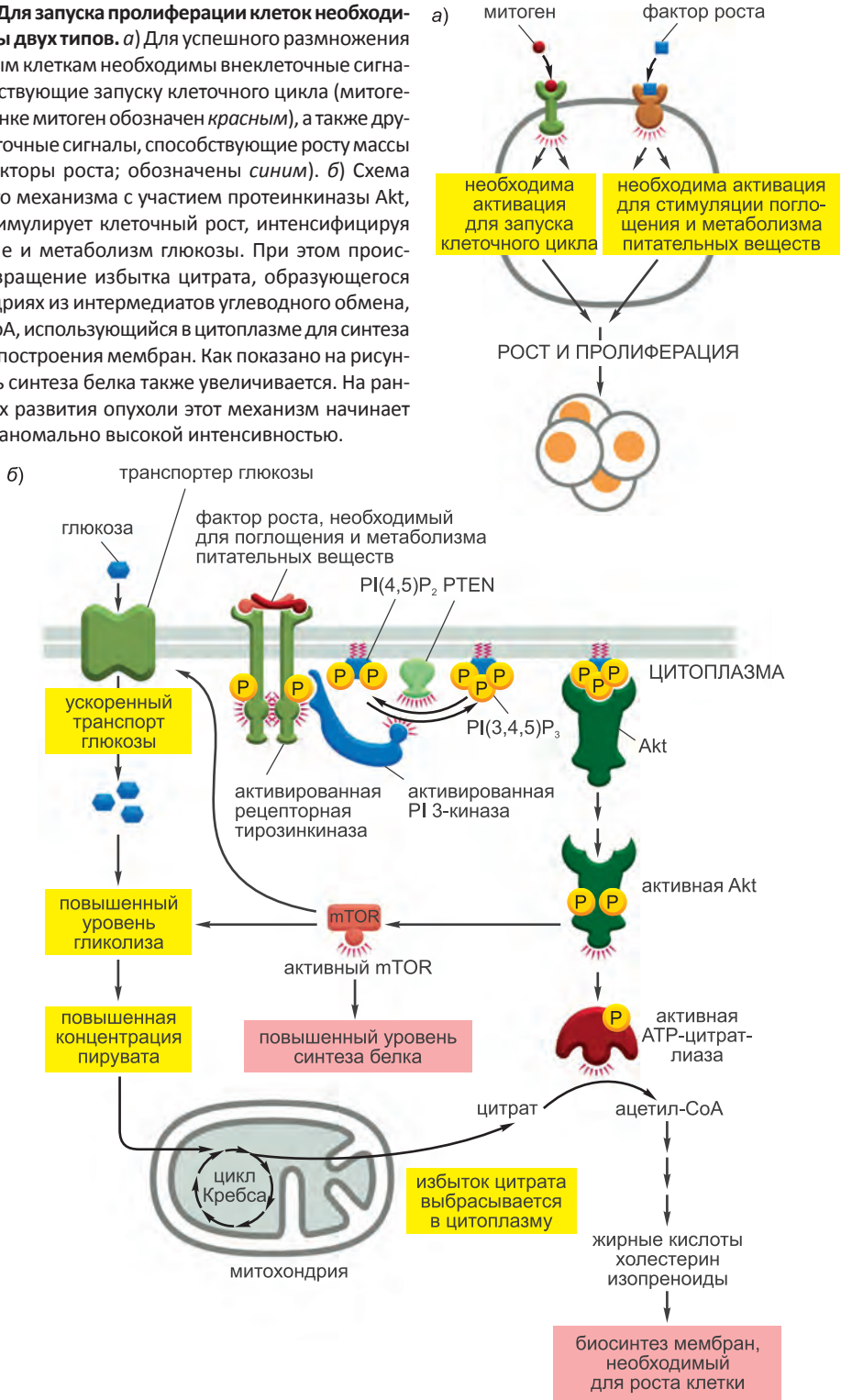
За рост клетки отвечает, помимо прочего, внутриклеточный путь с участием фосфоинозитид-3-киназы (PI 3-киназы) и Akt. Как описано в главе 15, различные внеклеточные сигнальные белки, в том числе инсулин и инсулин-подобные факторы роста, в норме стимулируют этот путь. Однако в раковых клетках происходит мутация, перманентно активирующая этот путь, поэтому клетка растет даже в отсутствие сигналов роста. Центральную роль в этом играет активация протеинкиназы Akt, поскольку она стимулирует как поглощение глюкозы (активируя mTOR), так и выработку ацетил-СоА в цитоплазме, необходимого для синтеза липидов (активируя ACL), см. рис. 20.39. Для многих раковых клеток характерна мутация опухолевого супрессора PTEN-фосфатазы. В норме этот фермент ограничивает активацию Akt, дефосфорилируя молекулы, фосфорилированные PI 3-киназой.

Аномальная активность PI 3-киназного/Akt-пути, которая обычно проявляется на ранних стадиях развития опухоли, является причиной ускоренного гликолиза, характерного для опухолевых клеток (так называемый эффект Варбурга). Сопровождаемое выделением избытка пирувата в виде лактата, форсированное поглощение глюкозы раковыми клетками используют в современных методах томографии для определения положения опухоли в организме (см. рис. 20.1).

20.4.4. Мутации в генах, регулирующих апоптоз, позволяют раковым клеткам выживать в неблагоприятных условиях

Контроль численности клеток опирается на поддержании баланса между делением клетки и их гибелью. Например, в центре размножения в лимфатическом узле В-клетки быстро пролиферируют, однако большая часть их потомков погибает путем апоптоза. Поэтому регуляция апоптоза существенна в тканях, где клетки постоянно обновляются. Этот процесс также играет жизненно важную роль, элиминируя поврежденные клетки. Как описано в главе 18, животные клетки совершают самоубийство, если чувствуют, что с ними происходит что-либо неправильное: произошло ли, например, серьезное повреждение ДНК или перестали поступать внешние сигналы, сообщающие о том, что клетка находится на своем месте. Как обсуждалось ранее (см. рис. 20.14), раковые клетки относительно устойчивы к апоптозу, что позволяет им размножаться и выживать тогда, когда им следовало бы погибнуть.

Рис. 20.39. Для запуска пролиферации клеток необходимы сигналы двух типов. а) Для успешного размножения нормальным клеткам необходимы внеклеточные сигналы, способствующие запуску клеточного цикла (митогены; на рисунке митоген обозначен *красным*), а также другие внеклеточные сигналы, способствующие росту массы клеток (факторы роста; обозначены *синим*). б) Схема сигнального механизма с участием протеинкиназы Akt, которая стимулирует клеточный рост, интенсифицируя поглощение и метаболизм глюкозы. При этом происходит превращение избытка цитрата, образующегося в митохондриях из интермедиатов углеводного обмена, в ацетил-SоА, использующийся в цитоплазме для синтеза липидов и построения мембран. Как показано на рисунке, уровень синтеза белка также увеличивается. На ранних стадиях развития опухоли этот механизм начинает работать с аномально высокой интенсивностью.



За такую устойчивость обычно ответственны мутации в генах регуляции апоптоза. Один из белков, в норме ингибирующих апоптоз, Bcl2, был открыт и получил свое название благодаря тому, что его экспрессия активируется при хромосомной транслокации, характерной для В-клеточной лимфомы. В результате этой транслокации ген *Bcl2* оказывается под контролем регуляторной последовательности ДНК, стимулирующей избыточную выработку белка Bcl2. Это позволяет В-лимфоцитам выживать в тех случаях, когда в норме они погибают, что приводит к значительному увеличению числа В-клеток и способствует развитию В-клеточной неоплазии.

Один из генов, отвечающих за контроль апоптоза, содержится в мутантной форме в очень многих формах рака. Этот ген-супрессор кодирует белок, находящийся на перекрестке множества регуляторных путей, управляющих реакцией клетки на повреждения ДНК и многие другие стрессовые воздействия, в том числе на низкую концентрацию кислорода (гипоксию) или недостаток факторов роста. Речь идет об опухолевом супрессоре p53, который кодируется геном *Trp53*, более известным как просто *p53*. Как мы теперь знаем, клетки с нарушенным геном *p53* не умирают, а продолжают пролиферировать, накапливая дальнейшие повреждения, приводящие к злокачественности.

20.4.5. Мутации в гене *p53* позволяют многим клеткам выживать и пролиферировать несмотря на повреждения ДНК

Ген *p53*, названный по молекулярной массе продукта, является, вероятно, важнейшим геном, предотвращающим рак у человека. Почти во всех раковых клетках человека мутирован либо сам этот ген, либо гены других участников p53-пути. Почему же *p53* столь важен? Значение его — в множественности функций: регуляция клеточного цикла, контроль апоптоза, поддержание генетической стабильности — все это различные стороны деятельности белка p53, играющего фундаментальную роль в защите от последствий, к которым ведет повреждение клетки, и снижающего риск заболевания раком.

В отличие от Rb, в большинстве нормальных клеток тела белок p53 содержится в очень малом количестве: белок синтезируется, но быстро расщепляется. Более того, роль p53 в нормальном развитии несущественна. Мыши, у которых обе копии гена утрачены или инактивированы, обычно выглядят нормально во всех отношениях, кроме одного: они, как правило, заболевают раком до того, как им исполнится 10 месяцев. Это говорит о том, что белок p53 необходим лишь в особых случаях. Действительно, в условиях недостатка кислорода или при воздействиях, повреждающих ДНК, таких как ультрафиолет или γ -лучи, клетки повышают концентрацию белка p53, блокируя его распад. Накопление белка p53 также происходит в клетках, в которых аномально активны онкогены, такие как *Ras* или *Myc*, что является сильным стимулом к делению.

Во всех этих случаях высокая концентрация белка p53 снижает наносимый вред. В зависимости от обстоятельств и степени повреждения p53 может либо заставить поврежденную или усиленно пролиферирующую клетку совершить самоубийство (что относительно безопасно для многоклеточного организма в целом), либо запустить механизм, приостанавливающий деление до тех пор, пока повреждение не будет устранено. Аналогично, когда теломеры становятся слишком короткими, p53 активируется и ингибирует дальнейшее деление клетки: это явление известно как репликативное старение клетки (рис. 20.40). Защитная деятельность белка p53

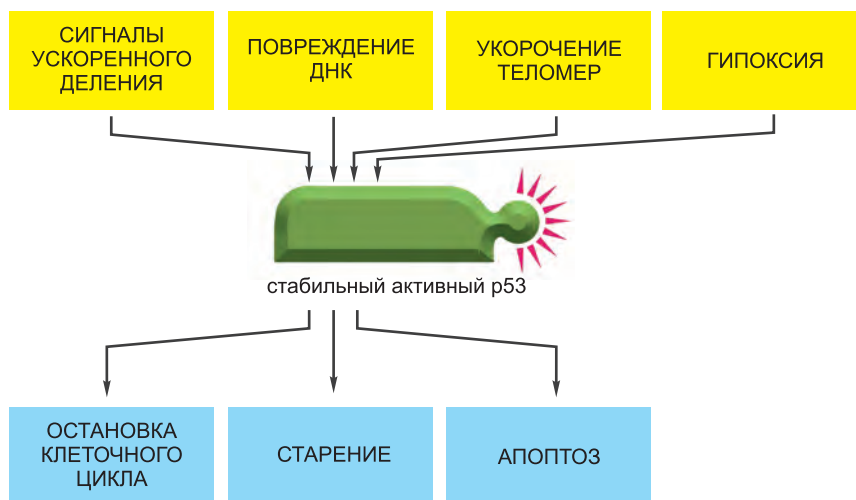


Рис. 20.40. Режимы работы опухолевого супрессора p53. Белок p53 в клетке действует как сенсор стрессового воздействия. В ответ на сигналы к ускорению пролиферации, на повреждение ДНК, гипоксию и/или укорочение теломер в клетке повышается концентрация p53, что влечет за собой выход клетки из клеточного цикла, апоптоз либо репликативное старение клетки (как обсуждалось в главе 17, стареющая клетка теряет способность к делению). Все это помогает держать рост опухоли под контролем.

отчасти является причиной того, что активирование онкогенов, таких как *Ras* или *Myc*, недостаточно для развития опухоли.

Белок p53 в большинстве случаев выступает как регулятор генной экспрессии. Действительно, в большинстве раковых клеток мутация гена *p53* приходится именно на тот участок, который кодирует ДНК-связывающий домен, в результате чего p53 теряет способность связываться со специфическими последовательностями ДНК. Как обсуждалось в главе 17, белок p53 оказывает свое ингибиторное действие, в том числе связываясь с ДНК и индуцируя транскрипцию гена *CDKN1A*, кодирующего белок p21^{Cip1}, связывающий и ингибирующий Cdk-комплексы, необходимые для запуска клеточного цикла. Ингибируя киназную активность этих Cdk-комплексов, белок p21^{Cip1} предотвращает вступление клетки в S-фазу и блокирует репликацию ДНК.

Механизмы индукции апоптоза белком p53 сложнее; этот белок может стимулировать экспрессию многих проапоптотических генов, но может также и связываться с антиапоптотическими Bcl2-белками на поверхности митохондрий, инактивируя их и способствуя апоптозу (см. главу 18).

Клетки, дефектные по *p53*, не могут, таким образом, реагировать на стресс. Они избегают апоптоза и зачастую продолжают делиться, не останавливаясь для того, чтобы нейтрализовать повреждение ДНК, если таковое произошло. В результате клетка может погибнуть или, что много хуже, выжить и пролиферировать, несмотря на нарушения в геноме (рис. 20.41). Такое генетическое «увечье» может привести как к утрате гена-супрессора, так и к активации онкогенов. Утрата p53 к тому же делает некоторые раковые клетки намного менее чувствительными к облучению и многим противоопухолевым препаратам, которые в ином случае заставили бы их погибнуть или прекратить деление.

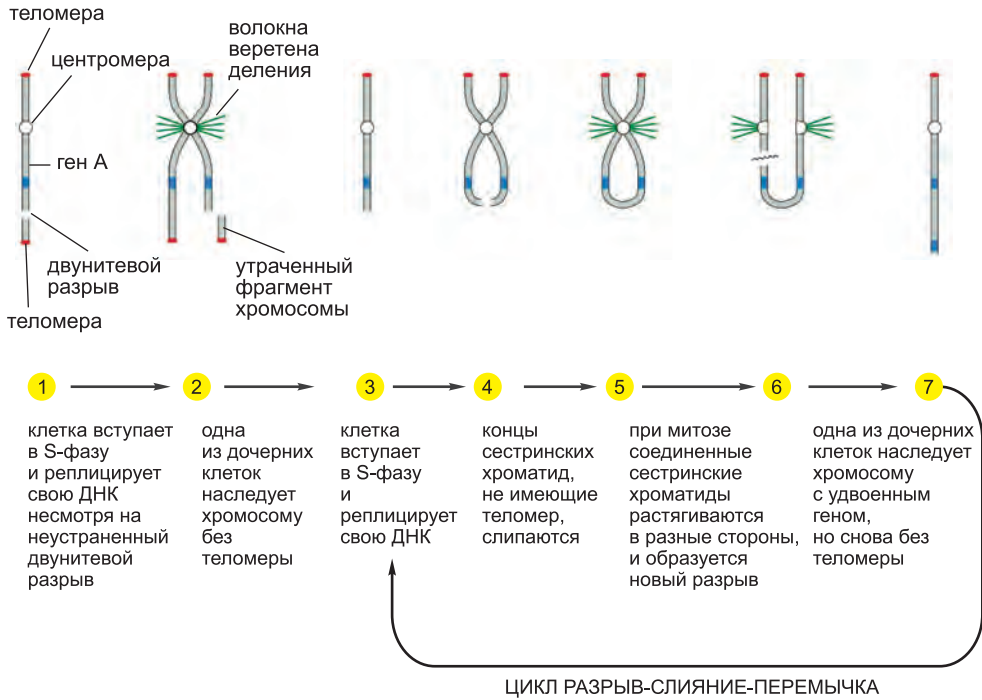


Рис. 20.41. Схема, показывающая, как репликация поврежденной ДНК приводит к хромосомным аномалиям, таким как амплификация или утрата гена. На рисунке представлен один из нескольких возможных механизмов. Сначала в клетке, в которой отсутствует p53, происходит случайное повреждение ДНК. В нормальной клетке p53 приостановил бы цикл деления до тех пор, пока повреждение не будет нейтрализовано. Однако клетка, не вырабатывающая p53, вступает в S-фазу, последствия чего показаны на рисунке. В результате дупликации образуется хромосома без теломеры; с этого момента запускается цикл репликации, соединения хроматид и разрыва на неравные фрагменты (breakage-fusion-bridge cycle), в котором число копий участка растет еще больше. Если клетки, содержащие увеличенное число копий хромосомного фрагмента, имеют преимущество, то это приведет к возникновению мутантов с очень большим количеством копий гена. В результате рекомбинации либо разрыва ДНК множественные копии могут быть вырезаны из своего локуса и образовать независимую двойную минихромосому (см. рис. 20.34). Хромосомные нарушения могут также приводить к утрате генов, если преимущество имеют клетки, утратившие супрессоры опухоли.

В заключение можно сказать, что p53 помогает многоклеточному организму справляться с повреждениями ДНК и другими неприятными воздействиями; этот белок формирует контрольную точку клеточного цикла, блокируя деление в тех случаях, когда оно может быть опасным. Снижение активности p53 особенно опасно по четырем причинам. Во-первых, это позволяет делиться клеткам с поврежденной ДНК. Во-вторых, это позволяет им избежать апоптоза. В-третьих, деление клеток с поврежденными хромосомами способствует их генетической нестабильности, благодаря которой могут накопиться дополнительные мутации, что повышает вероятность их превращения в раковые клетки. В-четвертых, это делает клетки относительно устойчивыми к действию облучения и противораковых препаратов. Многие мутации способствуют той или иной аномалии, свойственной раковым клеткам, но мутации гена p53 способствуют всем этим аномалиям.

20.4.6. ДНК-содержащие онкогенные вирусы блокируют ключевые опухолевые супрессоры

ДНК-содержащие онкогенные вирусы в большинстве случаев вызывают рак, действуя на клеточные механизмы управления клеточным циклом и апоптозом, в том числе на те, в которых принимает участие p53. Чтобы понять этот тип вирусного канцерогенеза, важно прояснить историю происхождения вируса. Многие ДНК-содержащие вирусы используют механизмы репликации ДНК клетки-хозяина для репликации собственных геномов. Для производства многочисленных инфекционных вирусных частиц в одной клетке-хозяине, вирус должен подчинить себе эти механизмы и снять ограничения на репликацию ДНК. Клетка при этом часто погибает. Многие ДНК-содержащие вирусы размножаются только таким способом. Но некоторые из них могут избрать другой путь: они становятся неприметными «пассажирами» клеточного генома, реплицируясь вместе с ним в обычном клеточном цикле. Такие вирусы могут менять стиль поведения в зависимости от обстоятельств. Они долгое время остаются латентными и безвредными, а затем вместе со случайной клеткой начинают интенсивно пролиферировать, убивая саму клетку и производя множество вирусных частиц.

Латентная фаза может быть организована по-разному. Вирус может встроить свой геном в одну или несколько хромосом клетки-хозяина, а может образовать дополнительную, внехромосомную плазмиду, которая реплицируется вместе с хромосомами.

Независимо от того, какой путь изберет вирус, не в его интересах убивать весь организм. Однако бывает так, что вирусные белки, участвующие в репликации, случайно активируются еще до запуска клеточного цикла и вирусная ДНК начинает реплицироваться независимо от клеточного цикла. Такая случайность может привести к постоянной пролиферации клетки-хозяина и, как следствие, к раку. ДНК-содержащие вирусы, ответственные за эти события, получили название **онкогенных вирусов**.

Например, **папилломавирусы** вызывают у человека бородавки; однако у них есть и другое значение: они являются основной причиной карциномы шейки матки (заболевание этой формой рака составляет 6% от всех случаев злокачественных опухолей). Папилломавирусы инфицируют эпителий шейки матки и в латентной фазе представляют собой внехромосомные плазмиды в клетках базального слоя. Эти плазмиды реплицируются вместе с хромосомами. Инфекционные вирусные частицы образуются в клетках внешнего слоя эпителия при переходе в репликативную фазу, поскольку потомки этих клеток уже начинают дифференцироваться, а затем сдвигаться с поверхности. На этом этапе деление клеток в норме прекращается, однако вирус таким образом взаимодействует с системой управления клеточным циклом, что репликация вирусного генома продолжается. Обычно этот процесс ограничивается поверхностным слоем клеток и, приводя к образованию бородавки, является относительно безопасным. Однако в ряде случаев вирусные гены, ответственные за продолжение клеточного цикла, встраиваются в хромосому и становятся активными уже в базальном слое, где располагаются стволовые клетки эпителия. Это может привести к раку, а гены вируса в данном случае действуют как онкогены (**рис. 20.42**).

У папилломавирусов главные виновники этих событий — гены *E6* и *E7*. Белковые продукты этих вирусных онкогенов взаимодействуют со многими белками клетки-хозяина, но, самое главное, они связываются с двумя ключевыми опухолевы-

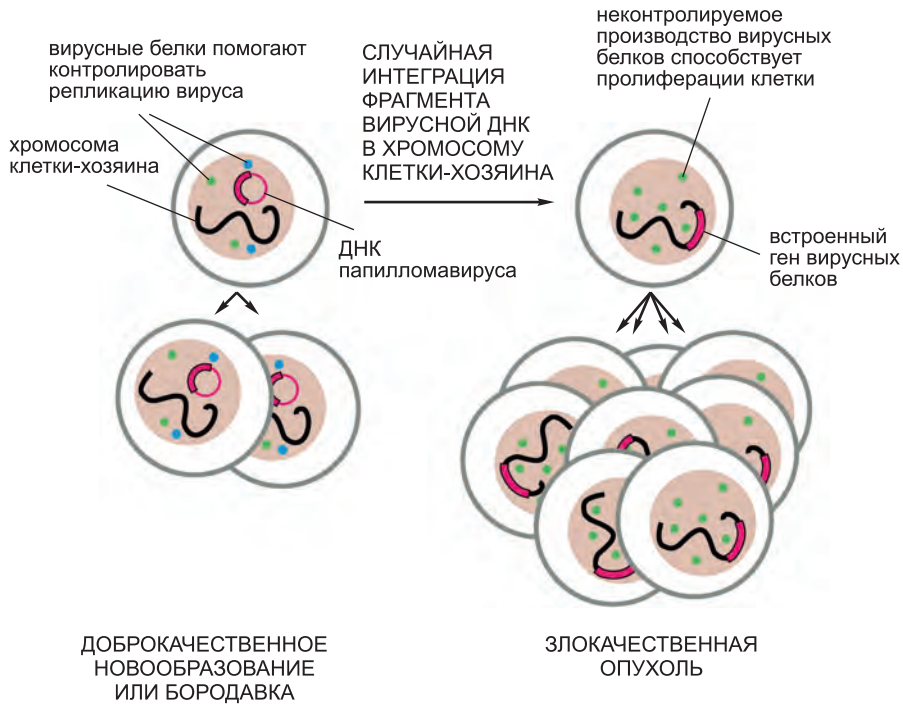


Рис. 20.42. Механизм действия онкогенных папилломавирусов. Папилломавирусы содержат двухцепочечную ДНК длиной около 8000 п.н. Обычно эта ДНК содержится в базальных клетках эпителия в виде плазмид, реплицирующихся вместе с хромосомами клетки-хозяина (*слева*). В редких случаях фрагмент этой плазмиды может встроиться в хромосому, в результате чего изменяется окружение вирусных генов. Это (или, возможно, другое событие) нарушает нормальную регуляцию экспрессии вирусных генов. Бесконтрольно синтезируемые вирусные белки вмешиваются в механизмы регуляции клеточного деления клеток базального слоя, тем самым способствуя развитию раковой опухоли (*справа*).

ми супрессорами, в результате чего те выходят из игры, а клетка может беспрепятственно реплицировать ДНК и делиться. Один из этих белков — Rb. Связываясь с Rb, вирусный белок E7 не дает ему связываться с E2F-белками и ингибировать их, вследствие чего клетка бесконтрольно вступает в S-фазу. Другой белок — это p53. Связываясь с ним, вирусный белок E6 стимулирует его расщепление (**рис. 20.43**), позволяя поврежденной клетке выживать, делиться и накапливать дальнейшие аномалии. Другие ДНК-содержащие онкогенные вирусы используют аналогичные механизмы, в которых ингибируются Rb и p53. Это подчеркивает, насколько важна инактивация этих супрессоров для снятия ограничений на пролиферацию клеток. Удивительно, что в клетках практически всех форм рака у человека инактивированы именно эти два пути регуляции, причем в каждом из них, как правило, поврежден лишь один компонент.

20.4.7. Мутации, приводящие к метастазированию, до сих пор полностью не выяснены

Пожалуй, самый большой пробел в знаниях о раке — это неполнота наших представлений об инвазивности и метастазировании. Какие мутации позволяют

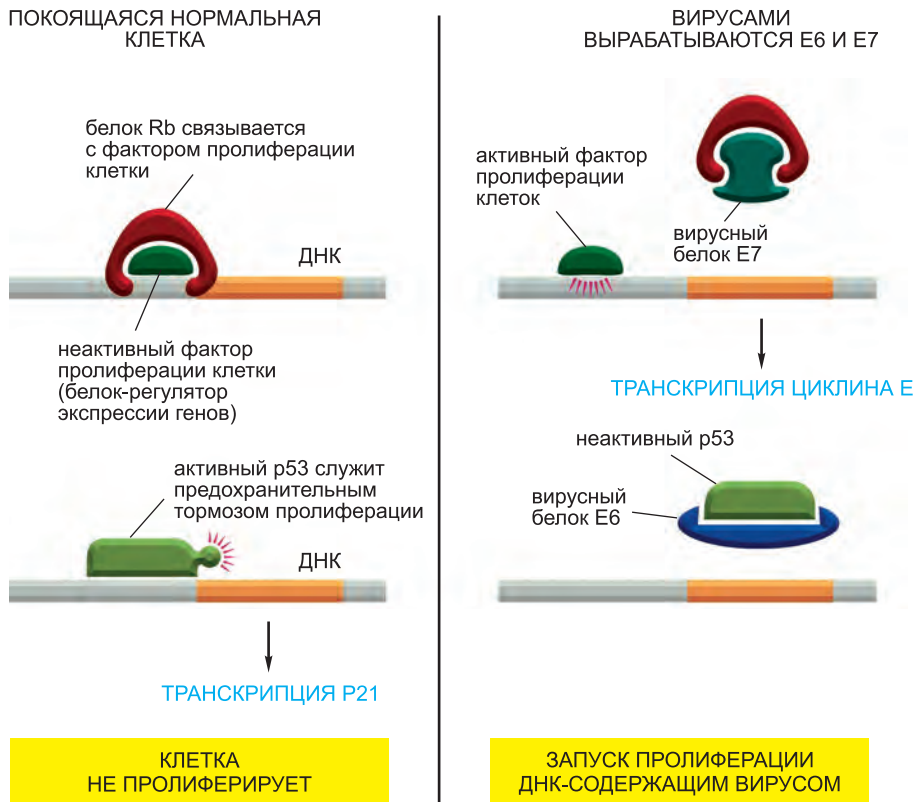


Рис. 20.43. Запуск пролиферации ДНК-содержащим онкогенным вирусом. Папилломавирусы вырабатывают два вирусных белка, E6 и E7, взаимодействующих с белками p53 и Rb соответственно. Связывание с белком E6 влечет за собой убиквитинирование p53, что приводит к протеолизу последнего (не показано). Вирус SV40 (родственный вирус, заражающий обезьян) для этой цели использует один белок, называемый большим Т-антигеном, блокирующий функцию тех же самых супрессоров опухоли.

клеткам внедряться в окружающие ткани, все еще предстоит выяснить. Более того, до сих пор точно не известно, какими именно свойствами должна обладать инвазивная клетка. Одна из точек зрения состоит в том, что для метастазирования раковые клетки не нуждаются ни в каких особых изменениях, кроме тех, что ослабляют контроль процессов роста, деления и клеточной смерти. Некоторые эксперименты, в которых при помощи ДНК-чипов сравниваются репертуары мРНК метастатических клеток и клеток первичной опухоли, свидетельствуют в пользу этой гипотезы. Согласно другой, более распространенной точке зрения, метастазирование представляет собой сложный процесс, требующий дополнительных мутаций, однако эти мутации в зависимости от обстоятельств могут быть разными, так что их трудно идентифицировать.

Одно из изменений, встречающихся в метастатических раковых клетках, включая меланомы и карциномы молочной железы, желудка и печени, состоит в избыточной экспрессии гена *RhoC*, кодирующего белок из семейства Rho-GTPаз, который участвует в перестройках актинового цитоскелета при движении клеток. В некоторых случаях прекращение активности RhoC в этих клетках ведет к по-

тере способности метастазировать. Однако остается неясным, как именно RhoC способствует метастазированию.

Разные типы клеток в разной степени способны к метастазированию. В случае опухолей гематopoэтического или лимфоидного происхождения, уже циркулирующих по организму в кровотоке, метастазирование будет более простой задачей, чем, например, для клеток карциномы, которым необходимо вырваться за пределы эпителия. Как мы обсуждали ранее, полезно разделять две стадии прогрессии карциномы, ведущей к образованию метастазов. Во-первых, клетки должны покинуть ткань, в которой возникли, и начать внедряться в соседние ткани. Во-вторых, они должны переместиться на большое расстояние по кровяному или лимфатическому руслу и образовать *метастаз*.

Чтобы преодолеть первый этап (приобретение локальных инвазивных свойств), необходимо утратить механические связи с соседними клетками. Как описано выше, этот процесс происходит в норме при развитии организма и носит название *эпителиально-мезенхимального перехода*. В ходе этого процесса эпителиальные клетки меняют свои свойства, отчасти теряя способность к прикреплению и получая возможность мигрировать (см. главу 19). Изменение, лежащее в основе перехода, заключается в смене характера экспрессии гена *E-кадгерина*. Первичная функция трансмембранного белка E-кадгерина связана с межклеточными контактами, и он очень важен для сцепления клеток друг с другом посредством адгезионных контактов (см. рис. 19.15). В случае некоторых карцином желудка и молочной железы ген *E-кадгерина* проявил себя как опухолевый ген-супрессор. Аномальное поведение клеток, у которых отсутствует этот белок, можно отчасти восстановить по крайней мере в культуре: если в эти раковые клетки искусственно ввести функциональный ген *E-кадгерина*, они теряют некоторые свои инвазивные свойства и начинают слипаться, напоминая нормальные клетки. Таким образом, утрата *E-кадгерина* может способствовать развитию рака, облегчая выход из ткани.

Поступлению опухолевых клеток в циркулирующую жидкость способствует близость густой сети кровеносных и иногда лимфатических сосудов, которые порой растут непосредственно в направлении опухоли, стимулируемые выделяемыми опухолью ангиогенными факторами, например VEGF (см. выше). Аномальная хрупкость и наличие брешей в стенках этих вновь возникающих сосудов, вероятно, облегчают проникновение в них клеток, после чего раковые клетки могут быть подхвачены током жидкости. Дальнейшие этапы метастазирования, в том числе выход из кровеносного или лимфатического сосуда и колонизация удаленной ткани, труднее поддаются исследованию. Чтобы определить, какие из поздних стадий метастазирования представляют для раковых клеток наибольшую трудность, необходимо ввести в кровь мыши раковые клетки, меченные флуоресцентным красителем или зеленым флуоресцентным белком (GFP), и проследить их судьбу. В таких экспериментах можно наблюдать, что многие клетки выживают, достигают мелких сосудов и выходят в окружающую ткань независимо от того, от клеток какой опухоли они происходят — метастазирующей или нет. Некоторые клетки погибают немедленно после внедрения в чуждую им ткань, другие выживают, но не могут делиться, а третьи останавливают клеточный цикл после нескольких делений, образуя микрометастазы, включающие от ста до нескольких тысяч клеток. На этой стадии клетки, способные образовывать метастаз, получают преимущество перед остальными и образуют постоянно растущую опухоль. Это говорит о том, что ключевое свойство метастатической клетки — способность

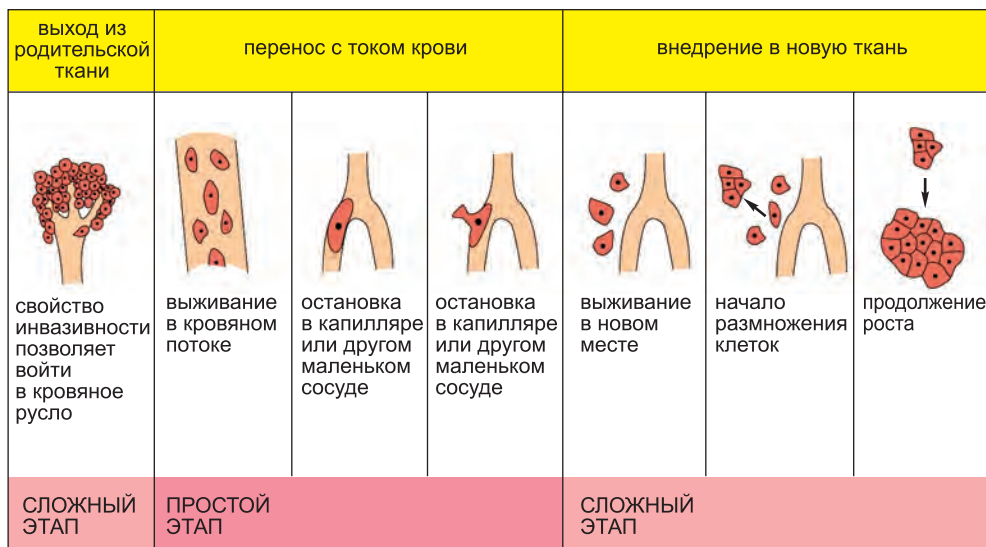


Рис. 20.44. Факторы, препятствующие метастазированию. Мечение опухолевых клеток позволяет проследить, какие этапы метастазирования (см. рис. 20.17) являются сложными, или «неэффективными» (в том смысле, что многие клетки не проходят эти стадии и погибают). Именно по прохождению этих барьерных этапов можно судить о том, насколько клетка способна к метастазированию. Видимо, ключевой для успешного метастазирования является способность клетки покинуть родительскую ткань, выжить и начать размножаться в другой ткани. (По A. F. Chambers et al., *Breast Cancer Res.* 2: 400–407, 2000. С разрешения BioMed Central Ltd.)

продолжать пролиферировать в чужеродной ткани (то есть *колонизировать* эту ткань), см. **рис. 20.44**.

Задача состоит в том, чтобы определить, отличаются ли на молекулярном уровне клетки, способные к колонизации, от клеток, не способных размножаться в чужеродной ткани. Одна из возможностей состоит в том, что клетки, способные к колонизации, являются просто раковыми стволовыми клетками. Исходя из того, что написано выше, это верно, по крайней мере отчасти. Но хотя нам известны генетические маркеры, помогающие идентифицировать раковые стволовые клетки, до сих пор нет ясного представления о том, что именно делает их стволовыми. Это лишь часть вопроса, касающегося свойств стволовых клеток (подробно эта тема разобрана в главе 23). В любом случае, достаточно трудно указать конкретное генетическое или эпигенетическое изменение, позволяющее раковой клетке колонизировать чуждую для нее ткань.

20.4.8. Рак толстой и прямой кишки прогрессирует медленно, проходя ряд последовательных изменений

В начале этой главы мы видели, что большинство форм рака развивается постепенно, начиная с одной аномальной клетки и прогрессируя от доброкачественной опухоли к злокачественному состоянию. При этом в клетках накапливается несколько независимых генетических и эпигенетических изменений. Мы уже обсуждали молекулярные основы некоторых из этих изменений и механизмы их влияния на поведение раковой клетки. Сейчас наша задача — рассмотреть одну из широко

распространенных среди людей форм рака более подробно, чтобы проиллюстрировать некоторые общие принципы и молекулярные механизмы, а также попытаться проследить с этих позиций природу болезни. В качестве примера мы возьмем **рак толстой и прямой кишки**; в случае этого заболевания у нас есть возможность следить за прогрессированием опухоли *in vivo*, используя колоноскоп (волоконно-оптическое устройство, позволяющее осматривать изнутри полость толстой и прямой кишки), а также обсудить болезнь на молекулярном уровне. Наследственные и спорадические формы рака толстой и прямой кишки особенно ярко иллюстрируют поэтапное развитие заболевания и позволяют нам связать конкретные морфологические изменения с наследственными нарушениями функции определенных генов.

Рак толстой и прямой кишки возникает в эпителии, выстилающем толстый кишечник и прямую кишку (конечный участок кишечника). Устройство этого эпителия в общем аналогично организации эпителия тонкой кишки, см. главу 23 (стр. 1436–1442). Оба участка кишечного эпителия чрезвычайно быстро обновляются, так что за недели обновляется практически весь эпителиальный пласт. В обоих участках в этом процессе заняты стволовые клетки, находящиеся в инвагинациях эпителия, называемых кишечными криптами. В последнее время сигналы, поддерживающие стволовые клетки и контролирующие нормальную организацию и обновление эпителия, начинают интенсивно изучаться (см. главу 23). Интерес к этим сигналам в большой степени вызван онкологическими исследованиями: мутации, нарушающие нормальную сигнализацию, стимулируют прогрессирование опухоли.

Рак толстой и прямой кишки встречается часто. В настоящее время в США от него умирает примерно 60000 человек в год, что составляет около 10 % общего количества смертей от рака. Подобно большинству форм рака, это заболевание диагностируется лишь в пожилом возрасте (в 90 % случаев пациент старше 55 лет). Однако при профилактическом осмотре при помощи колоноскопа у здоровых взрослых часто обнаруживается небольшая доброкачественная опухоль — аденома кишечного эпителия, представляющая собой выдающуюся в просвет кишки массу, называемую *полипом* (рис. 20.45, а; см. также рис. 23.23). Считают, что эти аденоматозные полипы в большинстве случаев предшествуют раку толстой и прямой кишки. Поскольку прогрессия заболевания, как правило, идет очень медленно, диагностировать опухоль, еще не ставшую злокачественной, можно в течение примерно 10 лет. Таким образом, если людей старше 50 лет подвергать колоноскопии и затем удалять их полипы с помощью колоноскопа — простой и быстрой хирургической процедуры, вероятность последующего возникновения рака существенно снижается, по некоторым данным, до менее чем 25 % от исходной вероятности.

Рак толстой кишки — типичный пример опухолевой прогрессии. На срезе полипа, имеющего меньше 1 см в диаметре, клетки и их распределение в эпителии при взгляде в микроскоп выглядят почти нормально. Чем больше полип, тем больше вероятность, что он содержит аномально дифференцированные клетки, образующие аномальные структуры. Иногда внутри одного полипа можно различить две или несколько областей, причем в одной из них клетки выглядят относительно нормально, а в других они очевидно раковые; последние являются мутантным субклоном начального клона аденоматозных клеток. На более поздней стадии болезни, опухолевые клетки становятся инвазивными, сначала проходя сквозь базальную мембрану, а затем сквозь слой мышечных клеток, окружающих кишечник (рис. 20.45, б), и наконец, метастазируя в лимфоузел по лимфатическим сосудам либо в печень, легкие и другие внутренние органы через кровь.

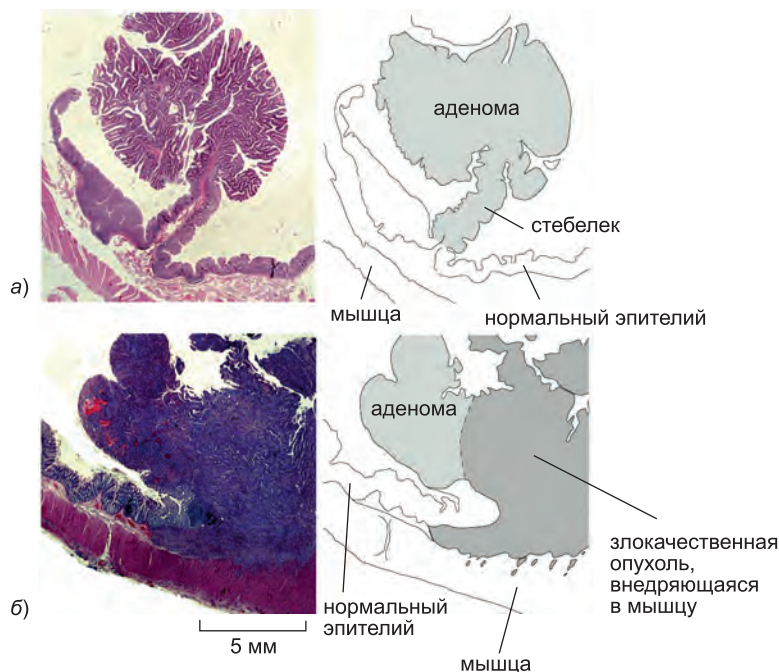


Рис. 20.45. Поперечные срезы, демонстрирующие стадии развития рака толстой кишки. а) Полипоидная аденома толстой кишки. Полип выдается в просвет кишки. Остальные участки кишечной стенки покрывает нормальный эпителий; ткань полипа выглядит почти нормальной. б) Карцинома на начальной стадии внедрения в подстилающую мышечную ткань. (С любезного разрешения Paul Edwards.)

20.4.9. Несколько ключевых генетических повреждений характерны для многих форм рака толстой и прямой кишки

Каковы же мутации, приводящие к такой последовательности событий? Наиболее часто мутированными в клетках рака толстой и прямой кишки оказываются три гена: протоонкоген *K-Ras* (представитель семейства генов *Ras*) и гены-супрессоры *p53* и *Apc* (см. ниже). Другие мутации встречаются реже (табл. 20.2). Некоторые мутации еще предстоит определить.

Один подход к изучению мутаций, ответственных за рак толстой и прямой кишки, состоит в просмотре генома раковой клетки на предмет уже известных аномалий либо предполагаемых мутаций. По данным такого генетического скрининга примерно в 40% случаев рака толстой и прямой кишки в раковых клетках присутствует особая точечная активирующая мутация в гене *K-Ras*, превращающая его в онкоген, и примерно в 60% в раковых клетках имеются инактивирующие мутации или делеции гена *p53*.

Как обсуждалось выше, другой подход состоит в выявлении генетических дефектов у тех редких семей, члены которых имеют наследственную предрасположенность к раку толстой и прямой кишки. Первым исследованным случаем рака толстой и прямой кишки был семейный *аденоматозный полипоз толстой кишки (САП)*, при котором по всей длине толстой кишки возникают сотни и даже тысячи полипов (рис. 20.46). Эти полипы начинают возникать в раннем зрелом возрасте,

Таблица 20.2. Некоторые генетические аномалии, обнаруженные в раковых опухолях толстой и прямой кишки

| ГЕН | КЛАСС | ПУТЬ РЕГУЛЯЦИИ | ВСТРЕЧАЕМОСТЬ В РАКОВЫХ ОПУХОЛЯХ, % |
|--|--|---|--|
| <i>K-Ras</i> | онкоген | сигнализация через рецепторные тирозинкиназы | 40 |
| β -катенин ¹ | онкоген | Wnt-путь | 5–10 |
| <i>Apc</i> ¹ | опухолевый супрессор | Wnt-путь | > 80 |
| <i>p53</i> | опухолевый супрессор | ответ на стресс и повреждение ДНК | 60 |
| рецептор <i>TGFβII</i> ² | опухолевый супрессор | TGF β -путь | 10 |
| <i>Smad4</i> ² | опухолевый супрессор | TGF β -путь | 30 |
| MLH1 и другие гены системы репарации ошибочного спаривания оснований ДНК | опухолевый супрессор (генетическая стабильность) | репарация ошибочного спаривания оснований ДНК | 15 (часто экспрессия подавлена метилированием) |

Примечание. Гены, отмеченные одним и тем же верхним индексом, участвуют в одном и том же сигнальном пути, поэтому в одной опухоли мутирован лишь один из этих компонентов.

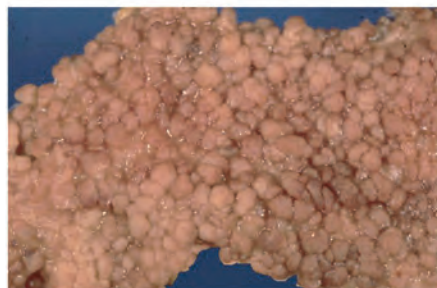
и если их не удалять, то один или несколько из них почти во всех случаях порождает злокачественную опухоль; в среднем между первым обнаружением полипа и постановкой диагноза «рак» проходит 12 лет. Для этой болезни характерна делеция либо инактивация гена-супрессора *Apc* (аббревиатура, составленная из первых букв названия болезни: adenomatous polyposis coli) и потеря гетерозиготности по соответствующему локусу, даже в клетках доброкачественного полипа. Большинство больных раком толстой и прямой кишки не имеют наследственной предрасположенности. Однако в 80% в их раковых (но не нормальных) клетках обе копии гена *Apc* инактивированы мутациями, накапливавшимися в течение их жизни. То есть, так же как в случае с ретинобластомой, обнаружена мутация, чрезвычайно важная для развития рака.

Как объяснялось выше, даже в том случае, когда наследственный синдром неизвестен, опу-

Рис. 20.46. Толстая кишка здорового человека и больного семейным аденоматозным полипозом толстой кишки. а) Стенка здоровой толстой кишки имеет небольшую складчатость и гладкую поверхность. б) При полипозе вся поверхность толстой кишки покрыта сотнями полипов (см. срез на рис. 20.45), при взгляде невооруженным глазом напоминающими цветную капусту. (С любезного разрешения Andrew Wyllie and Mark Arend.)



а)



б)

холовые супрессоры могут быть выявлены при исследовании генетических изменений, накапливавшихся в процессе эволюции опухолевых клеток. По данным систематического исследования многих случаев рака толстой и прямой кишки, некоторые участки хромосом зачастую точно совпадают по нуклеотидной последовательности на материнской и отцовской хромосомах. Подобная потеря гетерозиготности может свидетельствовать о том, что в этих участках находятся гены-супрессоры. Один из них содержит локус гена *Apc*. В состав другого входит ген *Smad4*, содержащийся в мутантной форме в 30% раковых клеток толстой кишки; его утрата блокирует ингибирующее действие TGF β на рост клетки. В хромосомах раковых клеток прослеживаются также и другие утраты и приобретения, которые, возможно, окажутся существенными для развития рака.

Благодаря углублению наших знаний о генах и их функциях возникла идея изучать гены, которые кодируют белки, взаимодействующие с белками-продуктами генов, ответственных за развитие рака. Можно ожидать, что и эти гены окажутся мишенью для мутаций. Теперь известно, что белок Apc является ингибиторным компонентом *сигнального Wnt-пути* (см. главу 15). Он связывается с белком β -катенином, другим участником Wnt-пути, способствуя его расщеплению. Ингибируя таким образом β -катенин, Apc предотвращает его миграцию в ядро, где он служил бы регулятором транскрипции, поддерживающим клетку в состоянии стволовой клетки (см. главу 23). Утрата Apc приводит к избытку свободного β -катенина и неконтролируемому размножению стволовых клеток, в результате чего разросшихся кишечных крипт становится значительно больше (рис. 23.23).

Оказалось, что среди немногих опухолей, у которых ген *Apc* не был мутирован, часто встречается активирующая мутация в гене *β -катенина*. Чрезвычайная активность этого белка в Wnt-пути в большей степени способствует заболеванию этой формой рака, нежели любой отдельно взятый онкоген или инактивированный ген-супрессор, участвующий в этом пути. Это согласуется с общим принципом, гласящим, что в каждом отдельном случае в раковых клетках редко возникают мутации, затрагивающие более одного участка одного и того же сигнального пути, поскольку накопление таких множественных мутаций не дает преимущества в отборе.

Но почему мутации в гене *Apc* встречаются столь часто? Большой белок Apc взаимодействует не только с β -катенином, но также с другими компонентами клеток, в том числе с микротрубочками. При утраченном Apc чаще происходит неправильное формирование митотического веретена, что приводит к хромосомным аномалиям. Этот независимый факт объясняет, почему мутации в гене *Apc* столь характерны для рака толстой и прямой кишки.

20.4.10. В некоторых случаях рак толстой и прямой кишки характеризуется нарушением системы репарации ошибочного спаривания

Наряду с САП, связанным с мутацией в гене *Apc*, существует второй, более распространенный вид наследственной предрасположенности к раку толстой кишки, при котором последовательность событий иная. Речь идет о *наследственном непוליозном раке толстой и прямой кишки (hereditary nonpolyposis colorectal cancer, HNPCC)*; это состояние характеризуется повышенной вероятностью заболеть раком, однако это никак не связано с числом кишечных полипов (аденом). Более того, ответственные раковые клетки необычны тем, что имеют нормальный (или почти

нормальный) кариотип; большинство кишечных опухолей у пациентов, не страдающих от этого заболевания, напротив, показывают сильные отклонения: множественные транслокации, делеции и другие аномалии числа и размера хромосом (рис. 20.47).

Мутации, обуславливающие предрасположенность больных HNPCC к раку, затрагивают один или несколько генов, кодирующих центральные компоненты *системы репарации ошибочного спаривания оснований*, гомологичных по структуре и функции генам MutL и MutS у бактерий и дрожжей (см. рис. 5.20). Повреждается лишь одна из двух копий соответствующего гена, поэтому репарационная система функционирует. Однако такие пациенты входят в группу риска, поскольку случайная утрата или инактивация единственной функционирующей копии гена приведет к повышению частоты мутаций в сто и более раз (см. главу 5). Такие генетически нестабильные клетки теперь могут, как обычно, начать накапливать мутации, дающие им преимущества в отборе и ведущие их к злокачественности.

Этот тип генетической нестабильности приводит к изменениям, не отражающимся на кариотипе. В основном эти изменения затрагивают отдельные нуклеотиды либо представляют собой удлинение или укорочение одно- и динуклеотидных последовательностей, например АААА... или САСАСА.... С тех пор как открыли этот дефект, аналогичные мутации в генах, ответственных за репарацию ошибочного спаривания, обнаружили примерно в 15% случаев рака толстой и прямой кишки у пациентов, не имеющих такого наследственного предрасположения.

Таким образом, генетическая неустойчивость, обнаруженная во многих случаях рака толстой и прямой кишки, может возникнуть по крайней мере двумя способами. В большинстве случаев раковые клетки характеризуются хромосомной нестабильностью, приводящей к видимым изменениям кариотипа; другие типы нестабильности встречаются гораздо реже и обусловлены нарушениями системы репарации ошибочного спаривания нуклеотидов ДНК. Многие карциномы показывают генетическую нестабильность одного из этих типов и очень редко характеризуются нестабильностью обоих типов. Таким образом, генетическая нестабильность — не просто одно из свойств злокачественной клетки, а одна из причин ее злокачественности.

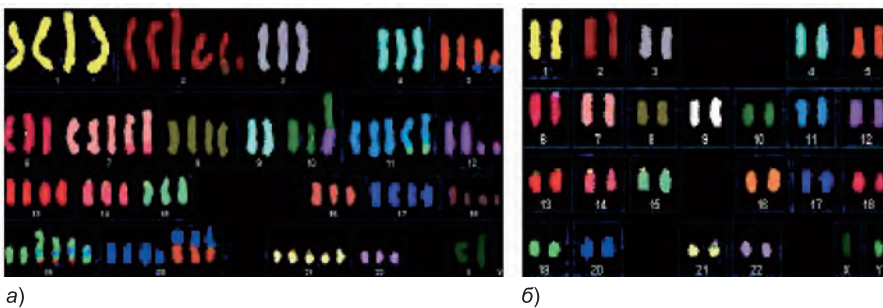


Рис. 20.47. Хромосомные наборы (кариотипы) клеток раковых опухолей толстой кишки отражают различные типы генетической нестабильности. а) Кариотип типичной раковой клетки. Можно наблюдать большое количество сильных нарушений структуры и числа хромосом. Возможны также значительные различия в кариотипе между раковыми клетками (не показано). б) Относительно нормальный кариотип опухолевой клетки с небольшими хромосомными аномалиями. Дефекты по большей части неразличимы; они возникли из-за нарушений системы репарации ошибочного спаривания оснований в ДНК. Все хромосомы окрашены так же, как на рис. 20.13, ДНК каждой хромосомы окрашивается уникальной комбинацией флуоресцентных красителей. (С любезного разрешения Wael Abdel-Rahman and Paul Edwards.)

20.4.11. Стадии прогрессирования опухоли часто коррелируют с определенными мутациями

В каком порядке мутируют гены *K-Ras*, *p53*, *Apc* и как это сказывается на поведении клетки? На этот вопрос нет однозначного ответа, поскольку существует несколько возможных путей заболевания раком толстой и прямой кишки. В некоторых случаях первой происходит мутация в гене системы репарации ошибочного спаривания, в других случаях это ген, контролирующий пролиферацию клетки. Более того, как обсуждалось ранее, общие характеристики раковых клеток: генетическая нестабильность или способность к неограниченной пролиферации, могут быть обусловлены мутациями в разных генах.

Тем не менее существуют мутации, особенно характерные для рака толстой и прямой кишки, причем характерен также и порядок их появления. Так, во многих случаях первой (или одной из первых) происходит мутация, инактивирующая ген *Apc*: она встречается одинаково часто в доброкачественных полипах и в больших злокачественных опухолях. Наследственные изменения, ведущие к генетической и эпигенетической нестабильности, также возникают на ранних стадиях прогрессирования опухоли, поскольку они способствуют дальнейшим изменениям.

Активирующие мутации в гене *K-Ras*, по-видимому, происходят позже, поскольку они не характерны для клеток маленьких полипов, но часто встречаются в более поздних полипах, в которых наблюдаются нарушения гистологического состава и клеточной дифференцировки. Культивируемые клетки карциномы толстой и прямой кишки на этой стадии проявляют характерные признаки трансформированных клеток, например, они способны делиться, не прикрепляясь к субстрату. Утрата гена-супрессора *Smad4* и инактивация гена *p53* происходят еще позже: они редко встречаются в клетках полипов и часто — в клетках карцином (рис. 20.48). Как обсуждалось выше, утрата *p53* позволяет раковым клеткам накопить дополнительные мутации и избежать остановки клеточного цикла.

Суммируя вышесказанное, можно отметить, что конкретный набор мутаций, несомненно, будет варьировать от случая к случаю, однако существует несколько определенных генетических изменений, по-видимому, обязательных для канцерогенеза толстой и прямой кишки. Эти изменения затрагивают механизмы управления, и их порядок не случаен (рис. 20.49).

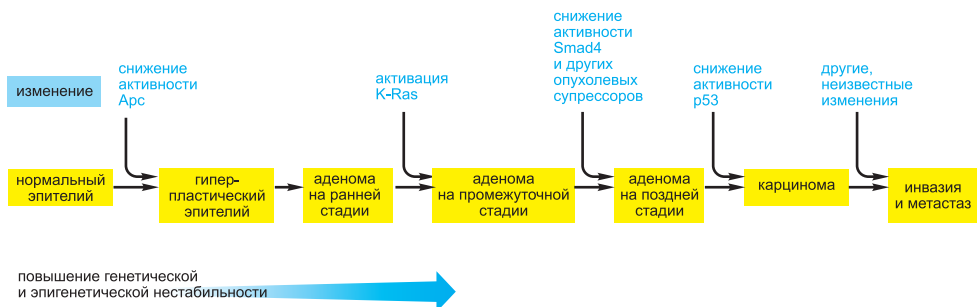


Рис. 20.48. Предполагаемая последовательность генетических изменений, сопутствующая развитию рака толстой и прямой кишки. Эта упрощенная схема в общих чертах иллюстрирует, как мутация может способствовать развитию опухоли. Но существует, несомненно, много других мутантных генов, о которых мы еще не знаем; кроме того, разные последовательности мутаций могут приводить к разным формам рака толстой кишки.

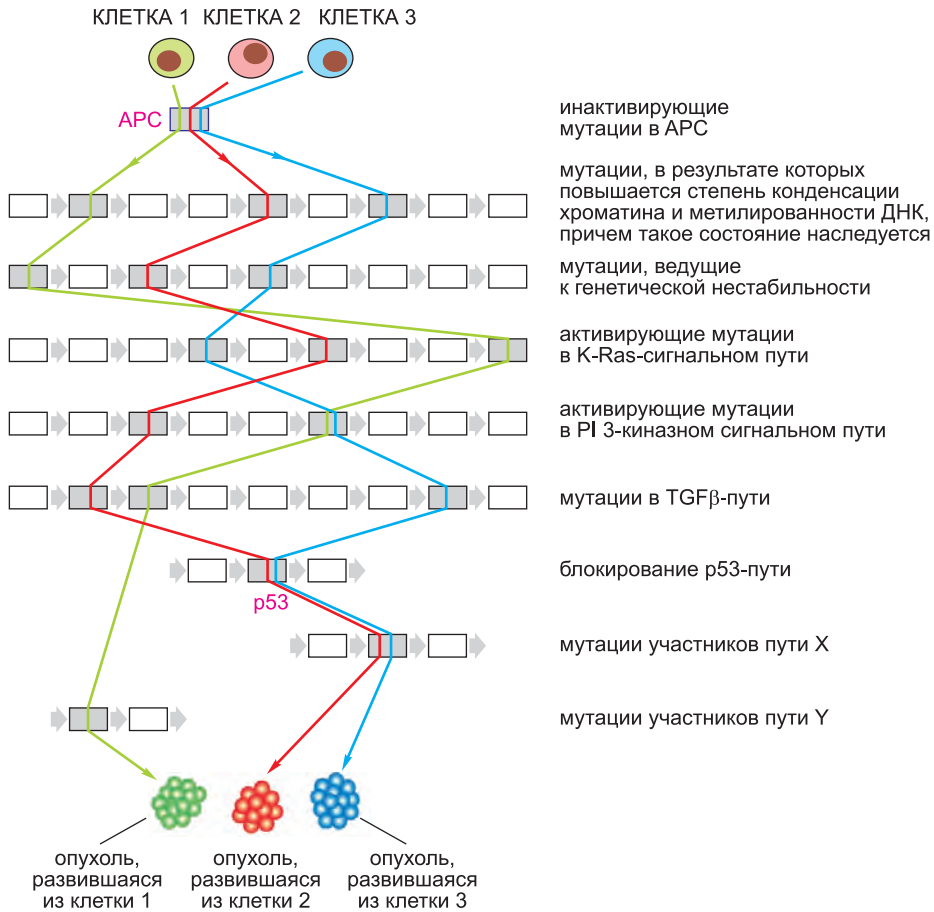


Рис. 20.49. Общие молекулярные принципы прогрессирования опухоли. Каждый ряд символизирует отдельный биохимический путь; мутация в гене любого белка, участвующего в этом пути (белки-участники обозначены *прямоугольниками*), может вносить свой вклад в общий эффект. *Цветными вертикальными линиями* отмечены мутации, которые накапливаются в опухолевых клетках отдельного клона при трансформации в раковые клетки. Диаграмма построена на основе данных об известных мутациях, сопровождающих развитие рака толстой кишки, но не должна восприниматься буквально. Она не отрицает того, что при прогрессировании каждой отдельно взятой опухоли толстой кишки, от ее возникновения до метастазирования, изменения затронут разные гены, и опухоли, разумеется, не будут абсолютно идентичны друг другу; приведенная схема лишь подчеркивает наличие некоторых общих принципов развития опухоли. В частности, сигнальные пути, которые затрагивают мутации, а также последовательность этих мутаций в целом одинаковы у разных типов рака.

20.4.12. Каждый случай ракового заболевания характеризуется своим собственным набором генетических повреждений

Как показано на примере рака толстой и прямой кишки, традиционная классификация раковых заболеваний чересчур проста. Одна и та же форма рака проявляется в самых разных нарушениях; несмотря на некоторые общие свойства, каждое нарушение характеризуется собственным набором генетических поврежд-

дений. Например, в случае такой формы рака легких, как *мелкоклеточный рак*, можно обнаружить мутации в генах *p53*, *Rb*, *Myc* и по крайней мере еще в пяти известных протоонкогенах и генах-супрессорах. У различных пациентов наблюдаются различные комбинации мутаций, и эти различия, разумеется, обуславливают разную реакцию организма на лечение.

В принципе, молекулярная биология обладает методами, позволяющими точно определить, какие гены амплифицированы, утрачены, модифицированы, и регуляция каких генов нарушена у каждого данного пациента. Как мы обсудим в дальнейшем, подобная информация может оказаться настолько же важной для диагностики и лечения рака, насколько важна идентификация микроорганизмов в случае инфекционных заболеваний.

Закключение

Исследования эмбрионального развития и эксперименты на генетически модифицированных мышцах помогли выяснить функции многих генов, связанных с раком. Многие онкогены и гены-супрессоры, содержащиеся в раковых клетках в мутантном виде, кодируют белки, участвующие в регуляции роста, деления и смерти клеток. Другие гены, входящие в обширную группу «генов поддержания ДНК», помогают поддерживать целостность генома. Молекулярные изменения, позволяющие раковым клеткам метастазировать, практически не изучены.

*ДНК-содержащие онкогенные вирусы, например папилломавирусы, могут способствовать развитию рака, кодируя белки, ингибирующие некоторые опухолевые супрессоры. Так, вирусные белки связывают и ингибируют белок *Rb*, который в норме тормозит клеточное деление, и белок *p53*, который в норме блокирует клеточный цикл либо запускает апоптоз в ответ на повреждение ДНК или другое стрессовое воздействие. Инактивация *p53*-пути, происходящая почти во всех случаях рака человека, особенно опасна, так как позволяет клетке с генетическими повреждениями избегать апоптоза и продолжать пролиферировать. В большинстве случаев рака человека инактивируется также *Rb*-путь. Это показывает, насколько важны эти регуляторные системы для предотвращения рака.*

Часто мы можем соотнести стадии развития рака с мутациями, активирующими конкретные онкогены и инактивирующими конкретные опухолевые супрессоры. В этом смысле наиболее изучен рак толстой и прямой кишки. Однако разные формы рака и даже раковые клетки разных пациентов с одной и той же формой рака характеризуются различными комбинациями мутаций и эпигенетических изменений, что отражает случайный характер этих модификаций. Тем не менее некоторые изменения встречаются очень часто; это позволяет надеяться, что бреши в обороне нашего организма могут образоваться лишь в немногих местах.

20.5. Лечение рака: сегодня и завтра

Мы постоянно расширяем и углубляем наши знания о раке, благодаря им мы можем вести борьбу с болезнью на трех уровнях: профилактика, диагностика и лечение. Всегда лучше предотвратить болезнь, чем лечить ее, и, как мы знаем, многих форм рака можно избежать — особенно если не курить. Тем более что во многих случаях рак можно подавить в зародыше: достаточно лишь вовремя об-

наружить и удалить первичную опухоль, пока она не начала метастазировать. Как мы видели, так вполне можно предотвратить рак шейки матки. Новые, чрезвычайно чувствительные и перспективные молекулярные методы открывают возможности более точной и более ранней диагностики рака. Усовершенствование методов скрининга, а также смена образа жизни могут привести к снижению смертности от рака в самое ближайшее время; но, к сожалению, и это не всегда срабатывает. Поэтому еще много лет злокачественные новообразования будут одной из главных проблем здравоохранения и рак придется лечить.

20.5.1. Поиск лекарства от рака труден, но не безнадежен

Избавиться от рака так же трудно, как избавиться от сорняков. Можно удалять раковые клетки хирургическим путем, можно разрушать их воздействием токсических веществ или радиации, но невероятно сложно ликвидировать все раковые клетки. Хирургия редко позволяет удалить все метастазы, а лечебные процедуры, убивающие раковые клетки, как правило, токсичны и для остальных клеток организма. Кроме того, как сказано выше, хотя большинство раковых клеток можно уничтожить с помощью облучения или химиотерапии, ликвидировать таким способом небольшую популяцию медленно делящихся раковых стволовых клеток гораздо сложнее; даже несколько раковых стволовых клеток могут снова образовать опухоль. Более того, в отличие от нормальных клеток, раковые клетки быстро мутируют и часто приобретают устойчивость к ядам и облучению.

Несмотря на эти трудности, разработаны эффективные методы лечения некоторых форм опухолей, которые прежде были летальными. Среди них лимфома Ходжкина, рак семенников, хориокарцинома и некоторые виды лейкозов и других онкологических заболеваний детей. Даже в случае неизлечимых на сегодняшний день форм рака разработаны способы продления жизни или по крайней мере методы, облегчающие течение болезни. Но каковы же перспективы в плане лечения тех распространенных форм рака, которые до сих пор причиняют страдания и столь часто приводят к трагической смерти?

20.5.2. Традиционные методы лечения опираются на генетическую нестабильность раковых клеток и нарушение регуляции их клеточного цикла

Противоопухолевая терапия должна использовать аномалии молекулярных процессов в раковых клетках, чтобы отличить их от остальных, нормальных, клеток. Одно из таких свойств — генетическая нестабильность, обусловленная хромосомными аномалиями, сбоями в регуляции клеточного цикла либо нарушением репарации ДНК. Примечательно, что наиболее современные методы лечения рака опираются на аномалии раковых клеток, хотя разработчики методов об этом и не знали. Большинство противоопухолевых препаратов и методов облучения направлено на повреждение ДНК. Они преимущественно убивают определенные виды раковых клеток, поскольку эти мутантные клетки имеют меньшую вероятность выжить после повреждения. Например, облученные нормальные клетки приостанавливают свой клеточный цикл до тех пор, пока повреждение ДНК не будет исправлено. Подобная остановка клеточного цикла представляет собой пример *контрольной точки клеточного цикла*, см. главу 17. У раковых клеток, как правило, такие контрольные точки нарушены, поэтому они часто продолжают

делиться после облучения; при этом повреждения ДНК убивают раковые клетки в течение нескольких дней.

К сожалению, наряду с нарушениями, увеличивающими чувствительность раковых клеток к цитотоксическим факторам, имеются и другие нарушения, способствующие их устойчивости к ним. Например, часто у раковых клеток повреждается система, запускающая апоптоз в ответ на повреждение. Так, повреждение ДНК при облучении или воздействии противоопухолевого препарата в норме активирует p53, который затем может запустить апоптоз (см. выше). Поэтому инактивация p53-пути, которая наблюдается в большинстве случаев рака, делает некоторые виды опухолевых клеток менее чувствительными к лечебным воздействиям. Раковые клетки по-разному реагируют на лечебные процедуры, и каждая их реакция, вероятно, отражает конкретный дефект в системе репарации ДНК, регуляции клеточного цикла или в программе апоптоза.

20.5.3. Зная причину генетической нестабильности клеток опухоли, можно разработать новые методы лечения

Теперь, когда мы многое знаем о конкретных изменениях в раковых клетках, отличающих их от нормальных соседей, можно использовать эти сведения для разработки методов лечения, которые бы избирательно уничтожали раковые клетки, не затрагивая нормальные клетки организма. Одна из характерных черт раковых клеток — их генетическая нестабильность. Как мы упоминали, это свойство позволяет им опасно эволюционировать, приобретая способность к неограниченной пролиферации. Но в то же время это придает им уязвимость, которую мы можем использовать.

Мы видели, что эволюционный путь раковых клеток к приобретению способности образовывать метастазы: их система поддержания целостности ДНК должна быть повреждена, с одной стороны, в достаточной степени, чтобы позволить накопление новых мутаций, с другой стороны, эти повреждения не должны приводить к утрате жизненно важных генов и, соответственно, к смерти клетки. Поскольку для поддержания постоянства последовательности ДНК и структуры хромосом требуются сотни генов (см. главы 4 и 5), существует по крайней мере несколько десятков путей возникновения генетической нестабильности. Более того, эти способы должны взаимно исключать друг друга: если клетка очень нестабильна, то дальнейшая инактивация каких-либо генов, участвующих в поддержании постоянства ДНК, скорее всего, приведет к ее смерти. Такие клетки автоматически удаляются из популяции опухолевых клеток.

Подробные исследования механизмов поддержания ДНК (см. главу 5) выявляют их поразительную избыточность: для каждого типа повреждения ДНК в клетке существует несколько систем репарации. Например, мы видели, что репликативная вилка ДНК останавливается, если на ее пути встречается односторонний разрыв матричной цепи, и как клетка в этом случае поступает, чтобы избежать катастрофы. Во-первых, в клетке есть механизмы непосредственной репарации односторонних разрывов. Если эти механизмы не срабатывают, ситуацию можно исправить, прибегнув к гомологической рекомбинации (см. рис. 5.53). Предположим, что клетки определенной формы рака стали генетически нестабильными благодаря мутации, снижающей их способность репарировать односторонние разрывы с помощью гомологической рекомбинации. Можно ли уничтожить такие клетки, применяя препарат, который ингибировал бы другие механизмы репарации односторонних разрывов

и приводил бы к увеличению числа заблокированных репликативных вилок? Ожидается, что это не причинит вреда нормальным клеткам, способным к репарации этих повреждений, однако для раковых клеток последствия будут летальными.

Все это звучит слишком оптимистично, чтобы быть правдой, но тем не менее именно эта стратегия позволяет уничтожить раковые клетки, у которых инактивированы два гена-супрессора: *Brcal* и *Brcal2*. Как описано в главе 5, *Brcal2* представляет собой вспомогательный белок, который взаимодействует с белком Rad51 (человеческий аналог RecA), участвуя в инициации рекомбинации. *Brcal2* — еще один белок, участвующий в этом же репарационном процессе. Подобно гену *Rb*, гены *Brcal1* и *Brcal2* открыты благодаря тому, что их мутации обуславливали предрасположение к раку, в данном случае — к раку молочной железы и яичников (но, в отличие от мутаций *Rb*, эти мутации встречаются лишь в небольшой доле случаев). Пациенты, унаследовавшие мутацию в одной из копий гена *Brcal1* или *Brcal2*, предрасположены к развитию опухоли, в которой инактивируется вторая копия гена. Предположительно эти изменения делают клетку генетически нестабильной и ускоряют прогрессирование опухоли.

Препараты, ингибирующие фермент PARP (поли(ADP-рибоза)-полимераза), оказывают очень существенное воздействие на такие опухоли, убивая их клетки с высокой селективностью. Это объясняется тем, что PARP необходим для репарации односторонних разрывов ДНК. Тем не менее ингибирование PARP почти не оказывает воздействия на нормальные клетки; действительно, мыши, у которых отсутствует PARP1 — основной представитель семейства PARP-белков, участвующий в репарации ДНК, в лабораторных условиях остаются вполне здоровыми. Этот результат говорит о том, что, хотя репарационная система с участием PARP и представляет собой первый эшелон защиты от разрывов цепи ДНК, нормальные клетки могут без проблем исправлять эти разрывы с помощью гомологической рекомбинации (рис. 20.50). Опухолевые клетки, которые стали генетически нестабильными ввиду утраты *Brcal1* или *Brcal2*, лишились своего второго эшелона защиты, в результате чего приобрели уникальную чувствительность к ингибиторам PARP (то есть у них отсутствует репарационный путь 2, см. рис. 20.50).

Ингибиторы PARP на данный момент проходят клинические испытания; судя по всему, они будут применимы лишь в небольшом количестве случаев. Тем не менее такой метод представляет собой рациональный и высокоселективный подход к терапии рака, который постепенно становится доступным. Кроме того, он позволяет надеяться, что и для других форм рака будут найдены адекватные способы лечения. Чтобы широкое применение этого подхода стало возможным, нужно разработать методы точной диагностики причины генетической нестабильности раковых клеток в каждой отдельно взятой опухоли, а также новые препараты, нацеленные на дублирующиеся системы репарации ДНК.

20.5.4. Генетическая нестабильность может способствовать устойчивости раковых клеток к лечебным воздействиям

Сама по себе генетическая нестабильность может послужить как на пользу терапии рака, так и ей во вред. На первый взгляд, нестабильность может показаться ахиллесовой пятой раковой клетки, но она может значительно усложнить излечение рака. Ввиду высокой частоты мутаций популяция раковых клеток может стать очень неоднородной, в результате нельзя будет уничтожить всю популяцию

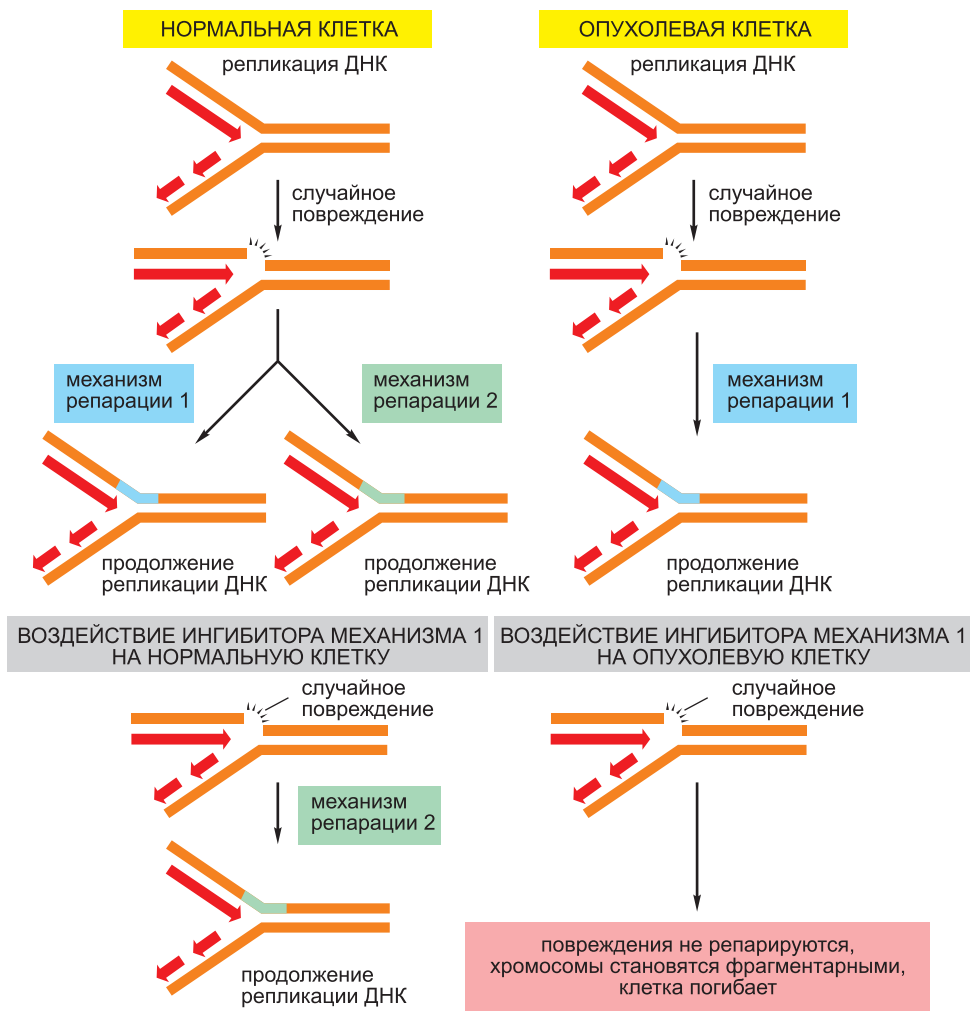


Рис. 20.50. Схема, поясняющая, как можно использовать генетическую нестабильность опухоли при лечении раковых заболеваний. Как объяснялось в главе 5, постоянство последовательности ДНК настолько существенно для выживания, что клетки выработали множество способов репарации повреждений ДНК, не допускающих ошибки при ее репликации. Кроме того, в этой главе показано, что репликативная вилка остановится, если встретит на своем пути разрыв в матричной цепи ДНК. В нашем примере у нормальных клеток имеется два механизма репарации повреждений, не позволяющих им перейти во вновь синтезируемую ДНК. Поэтому препараты, блокирующие репарационный путь 1, не вредят клетке. В опухолевой клетке, напротив, один из этих механизмов (номер 2) был инактивирован, что сделало ее генетически нестабильной. Поэтому при лечении препаратами, блокирующими первый механизм репарации, погибают только опухолевые клетки. Даже если клетка не запустит программу апоптоза и продолжит делиться, ее дочерние клетки окажутся нежизнеспособными, так как унаследуют фрагментарные, неполные наборы хромосом.

Если говорить более конкретно, то функция первого механизма репарации (в котором участвует белок PARP, см. текст) заключается в ликвидации однонитевых разрывов до того, как с ними столкнется репликативная вилка, а путь 2 есть не что иное, как рекомбинационный механизм репарации ДНК (см. рис. 5.53) в репликативной вилке, встретившей повреждение (для этого необходимы белки Brca2 и Brca1; более подробно см.: Н. Е. Bryant et al., *Nature* 434: 913–916, 2005, и Н. Farmer et al., *Nature* 434: 917–921, 2005).

одним воздействием. Более того, благодаря генетической нестабильности раковые клетки могут выработать устойчивость к препаратам.

Хуже того, клетки, на которые воздействовали одним противораковым препаратом, часто приобретают устойчивость не только к этому, но и к другим лекарствам, действию которых они никогда не подвергались. Такая множественная **лекарственная устойчивость** часто коррелирует с амплификацией участка генома, содержащего ген *Mdr1*. Этот ген кодирует связанную с мембраной транспортную АТФазу из суперсемейства АВС-транспортеров (см. главу 11), которая выводит липофильные препараты из клетки. Избыточная выработка этого белка (или других белков того же семейства) раковой клеткой может препятствовать аккумуляции внутри клетки многих цитотоксических препаратов, делая клетку устойчивой к ним. Ген, кодирующий фермент дигидрофолатредуктазу (DHFR), может амплифицироваться в раковых клетках, например, при воздействии на них противоракового препарата метотрексата. Метотрексат связывается с DHFR, не позволяя ей связывать фолиевую кислоту; амплификация приводит к тому, что концентрация фермента повышается, в результате чего чувствительность клеток к этому препарату резко снижается.

20.5.5. Разработка новых методов терапии опирается на наши знания о биологии рака

Наше понимание биологии раковой клетки и прогрессирования опухоли служит основой для разработки новых методов лечения болезни. Эти методы необязательно должны нацеливаться на нарушения регуляции клеточного цикла и систем репарации ДНК. Например, широко используются антагонисты эстрогенового рецептора (такие как *тамоксифен*) или блокаторы синтеза эстрогена, которые могут предотвратить или задержать повторное развитие рака молочной железы, если раковые клетки экспрессируют рецепторы эстрогена. Этот метод также позволяет предотвратить появление новых опухолей молочной железы. Подобные препараты не убивают опухолевые клетки, но не дают эстрогену стимулировать их пролиферацию.

Самые большие надежды возлагаются на мощные и селективные способы убийства раковых клеток. На модельных системах успешно опробовано несколько новых способов воздействия на опухоль. Чаще всего использовались иммунодефицитные мыши, которым вводили опухолевые клетки человека. Многие из них не имеют никакого медицинского применения, поскольку не уничтожали раковые клетки непосредственно в теле больного, либо обладали сильными побочными эффектами, либо оказались слишком сложны в применении. Однако некоторые из них весьма эффективны. Один из подходов основан на том, что выживание раковой клетки иногда зависит от определенного гиперактивного белка, который она вырабатывает. Этот феномен известен как «привыкание к онкогену» (т.е. зависимость от онкогена). Блокирование активности этого белка может служить эффективным средством лечения рака, если оно не слишком вредит нормальным тканям. Например, примерно в 25% рака молочной железы раковые клетки вырабатывают в большом количестве белок Her2, представляющий собой рецепторную тирозинкиназу, родственную рецептору EGF, который играет большую роль в нормальном развитии эпителия молочной железы. Моноклональные антитела, ингибирующие Her2, замедляют рост опухоли молочной железы у пациентов, чьи

раковые клетки вырабатывают этот белок. В настоящее время это разрешенный способ лечения таких случаев рака.

В методе, подобном этому, антитела используют для того, чтобы доставить молекулы токсического вещества прямо к раковым клеткам. Антитела к белкам, подобным Her2, в избытке присутствующим на поверхности раковых клеток, можно снабдить молекулой токсина либо связать с ферментом, активирующим безвредный предшественник. В последнем случае одна молекула такого фермента может производить большое количество токсина непосредственно у поверхности опухолевой клетки; молекулы токсина могут также диффундировать к соседним опухолевым клеткам, увеличивая вероятность того, что и они будут уничтожены, хотя антитело и не связалось с ними напрямую.

Антитела сложно получить в большом количестве, их производство дорого, а конечная цена высока. Поэтому необходимо разработать небольшие молекулы, специфически убивающие раковые клетки. Примером могут служить ингибиторы PARP (см. выше); однако для того чтобы справиться с большинством форм рака, нам необходима большая коллекция таких низкомолекулярных веществ, каждое из которых будет нацелено на конкретный тип онкологического заболевания.

20.5.6. Некоторые низкомолекулярные препараты могут специфически ингибировать онкогенные белки

Идентификация молекул, участвующих в генезе той или иной формы рака, позволяет разработать новые методы лечения рака, нацеленные на инактивацию онкогенных белков, необходимых для выживания и пролиферации раковых клеток, — иными словами, методы, опирающиеся на феномен *привыкания к онкогену*. Эти методы оказались особенно успешными, что позволяет надеяться на высокую эффективность всех подобных методов.

Как упоминалось выше, хронический миелоидный лейкоз (ХМЛ) обычно характеризуется особой хромосомной транслокацией, приводящей к появлению филадельфийской хромосомы (см. рис. 20.5). Такая транслокация — результат разрыва хромосом и последующего их соединения, причем сайты разрыва приходятся на локусы генов *Abl* и *Bcr*. Слияние этих генов приводит к образованию гибридного гена, кодирующего химерный белок *Bcr-Abl*, состоящий из N-концевого фрагмента белка *Bcr*, сшитого с C-концевым фрагментом белка *Abl* (рис. 20.51). *Abl* является сигнальной тирозинкиназой. Замена N-концевого фрагмента *Abl* соответствующим участком белка *Bcr* делает белок *Abl* гиперактивным, что приводит к несанкционированной стимуляции деления кроветворных клеток-предшественников, в которых содержится химерный белок, и предотвращает их апоптоз. В результате в кровеносном русле появляется избыточное количество лейкоцитов, что приводит к ХМЛ.

Очевидно, что химерный белок *Bcr-Abl* может служить хорошей мишенью для направленной (таргетной) терапии. Поиски синтетических молекул, ингибирующих активность тирозинкиназ, привели к изобретению препарата **Гливек**, блокирующего белок *Bcr-Abl* (рис. 20.52). При первом приеме препарата у пациентов с ХМЛ наступает сильное улучшение, причем исчезновение видимых клеток, содержащих филадельфийскую хромосому, наблюдается в 80% случаев. Этот эффект достаточно длителен: за несколько лет постоянного лечения у многих пациентов болезнь не прогрессирует, однако устойчивые к Гливеку формы рака все-таки появляются с вероятностью как минимум 5% в год.

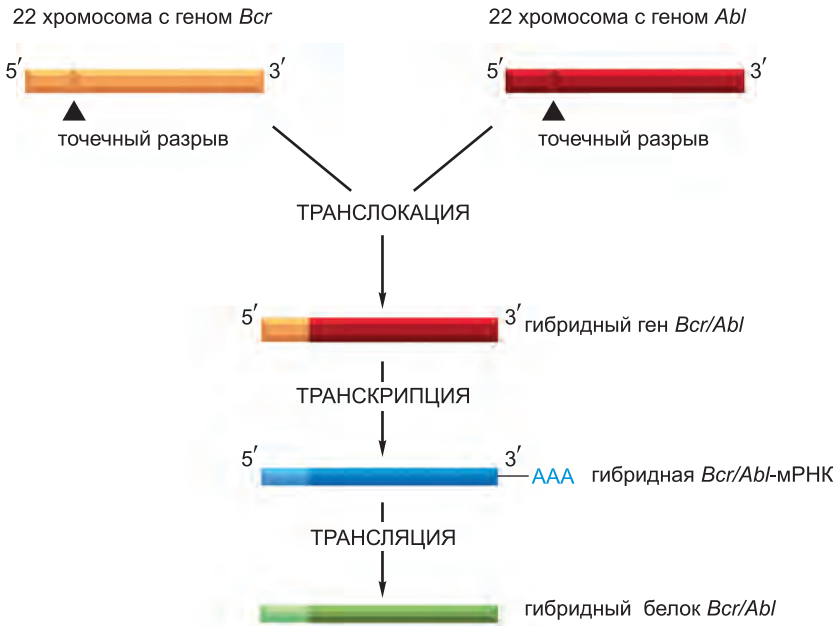


Рис. 20.51. Конверсия протоонкогена *Abl* в онкоген у больных хроническим миелоидным лейкозом. Это происходит в результате хромосомной транслокации, при которой соединяются ген *Bcr* на двадцать второй хромосоме и ген *Abl* на девятой хромосоме и образуется филадельфийская хромосома (см. рис. 20.5). N-конец получающегося гибридного белка соответствует N-концу белка *Bcr*, а C-конец — C-концу тирозиновой протеинкиназы *Abl*; в результате этого домен киназы *Abl* становится чрезвычайно активным, что приводит к появлению в костном мозге быстро делящихся кроветворных клеток.

Не столь оптимистичны результаты среди тех пациентов, которые уже достигли острой стадии миелоидного лейкоза, известной как бластный криз, при которой клетки уже приобрели генетическую нестабильность и развитие болезни идет гораздо быстрее. У таких пациентов после улучшения наступает рецидив, поскольку лейкозные клетки вырабатывают устойчивость к Гливеку. Такая устойчивость обычно связана с вторичными мутациями в той части гена *Bcr-Abl*, которая кодирует киназный домен; эти мутации приводят к неспособности белка *Bcr-Abl* связываться с Гливеком. В настоящее время разработаны ингибиторы второго поколения, которые эффективны против этих устойчивых к Гливеку мутантов. Возможно, ключом к успешной терапии рака послужит смесь многих подобных препаратов, совместное действие которых будет блокировать активность *Bcr-Abl*.

Несмотря на трудности, обусловленные устойчивостью клеток, чрезвычайный успех препарата Гливек в лечении болезни на хронической (ранней) стадии доказывает следующий принцип: как только мы поняли, какое именно генетическое повреждение явилось причиной ракового заболевания, мы можем попытаться, опираясь на логику, разработать метод лечения, который будет эффективен в данном случае. Этот успех вдохновил исследователей на поиски низкомолекулярных ингибиторов других онкогенных киназ, которые могли бы стать мишенями противоопухолевых препаратов. В качестве второго примера такого препарата можно привести низкомолекулярный ингибитор рецептора EGF; в настоящее время его применяют для лечения некоторых форм рака легких.

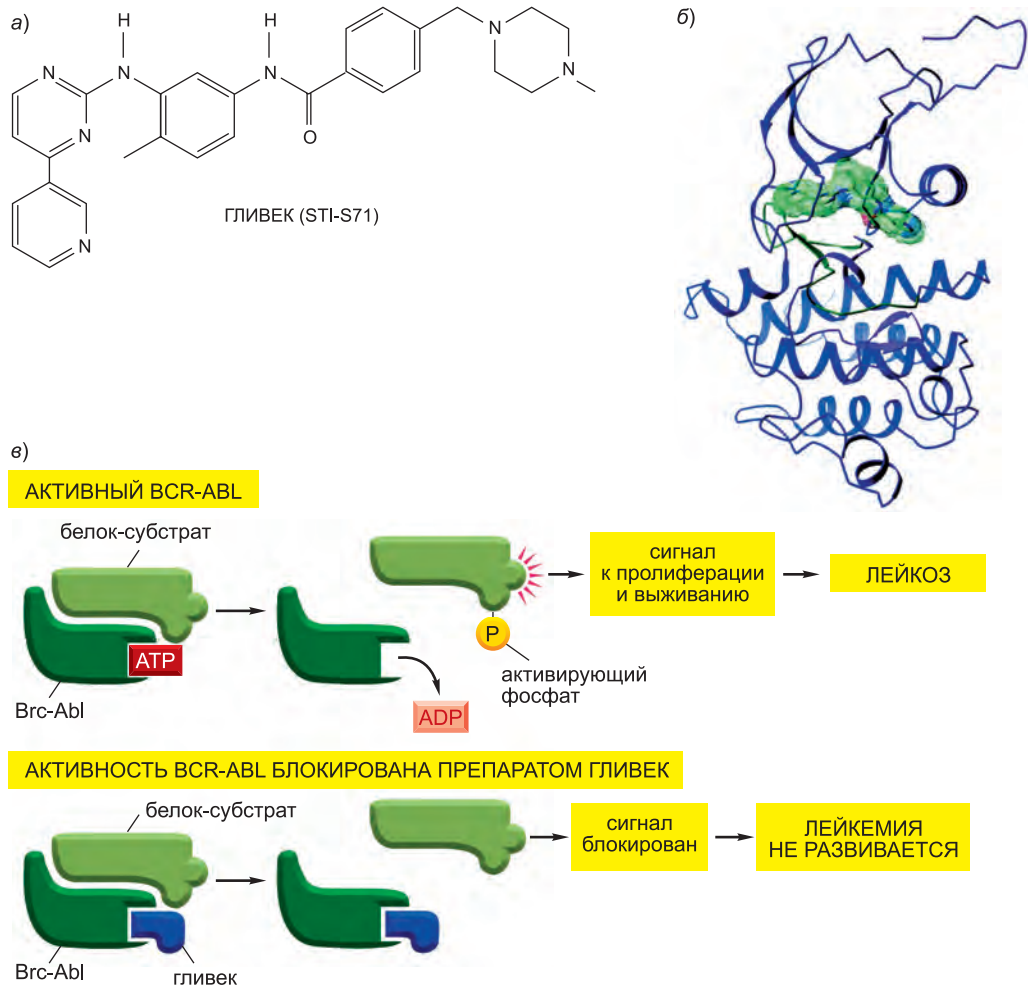


Рис. 20.52. Механизм, по которому Гливек блокирует активность белка Bcr-Abl и останавливает течение хронического миелоидного лейкоза. а) Химическая структура препарата Гливек (иматиниб). Препарат можно принимать орально; обычно прием препарата легко переносится, но бывают и побочные эффекты. б) Структура комплекса, образуемого препаратом Гливек (выделен зеленым цветом) с тирозинкиназным доменом белка Abl по данным рентгеноструктурного анализа. в) Молекула препарата входит в АТФ-связывающий карман тирозинкиназного домена Bcr-Abl, предотвращая перенос фосфатной группы с АТФ на остаток тирозина в белке-субстрате. Это блокирует дальнейшую передачу сигнала к пролиферации и выживанию. (б — из T.Schindler et al., *Science* 289:1938–1942, 2000. С разрешения издательства AAAS.)

20.5.7. Кровеносные сосуды опухоли являются обоснованной мишенью терапии рака

Другой подход к разрушению опухолей состоит не в уничтожении раковых клеток, а в ликвидации кровеносных сосудов, оплетающих большие опухоли. Как упоминалось выше, для образования этих сосудов требуются ангиогенные сигналы, такие как VEGF. По крайней мере на модельных животных блокада этих

сигналов предотвращает дальнейший рост опухоли. Более того, эндотелиальные клетки во время формирования этих сосудов экспонируют на своей поверхности молекулярные маркеры, позволяющие специфически воздействовать на сосуды опухоли, не затрагивая кровеносные сосуды нормальных тканей. В настоящее время проводятся клинические испытания различных ингибиторов ангиогенных сигналов, а несколько препаратов, ингибирующих рецептор VEGF, недавно решили использовать для лечения рака почек. Аналогично моноклональные антитела к VEGF сейчас используются при лечении рака толстой кишки в сочетании с химиотерапией, хотя вклад их довольно скромнен.

20.5.8. Во многих случаях рак можно лечить, стимулируя иммунную реакцию на конкретную опухоль

Недавно выяснено, что обычная иммунная реакция организма может защитить нас от рака. Мыши, у которых отсутствуют важные компоненты иммунной системы, чаще болевают определенными формами рака. Аналогично у людей с нарушениями иммунной системы в 2–3 раза чаще возникают некоторые виды солидных опухолей. В данном случае аутоантигены могут привлекать внимание иммунной системы из-за того, что они экспрессируются в больших количествах на поверхности опухолевых клеток. С другой стороны, эти белки, возможно, вызывают аутоиммунный ответ потому, что в норме их экспрессируют лишь эмбриональные клетки либо клетки иммунопривилегированной области, например мозга, так что иммунная система не имела возможности выработать к ним толерантность.

Различные опухолевые клетки, не столь подверженные иммунологическому надзору, могут сводить к нулю его результаты. Считается, что при прогрессирующей опухоли накапливаются наследственные изменения, снижающие ее антигенность. Однако, благодаря успехам в понимании сложных механизмов врожденного и приобретенного иммунитета (см. главы 24 и 25), онкологи скоро смогут управлять иммунной реакцией, направляя ее на конкретную опухоль. В этом случае можно надеяться на то, что раковые клетки будут элиминированы как чужеродная ткань.

20.5.9. Одновременное лечение рака несколькими препаратами может быть более эффективным

Как уже описано, в некоторых случаях опухоль уменьшается в размерах уже после первого приема препарата; иногда видимые раковые клетки исчезают вовсе. Но через несколько месяцев или лет рак возникает снова, причем на этот раз раковые клетки оказываются устойчивыми к действию препарата, примененного столь успешно в прошлый раз. Это не удивительно, если учесть повышенную мутабильность раковых клеток. Вероятно, в ходе первого курса лечения малая часть мутантных клеток первичной опухоли (среди которых были раковые стволовые клетки) не была уничтожена, и эти клетки, продолжая пролиферировать, в конце концов вновь образовали опухоль.

В некоторых случаях этой проблемы можно избежать, если проводить терапию сразу двумя или более препаратами. Ход рассуждений здесь точно такой же, как в случае лечения СПИДа «коктейлем» из трех различных ингибиторов протеаз: в то время как в первичной популяции всегда могут найтись клетки, устойчивые к какому-либо препарату, наличие клеток, устойчивых к двум разным препаратам, маловероятно. При последовательной терапии немногие клетки, устойчивые к перво-

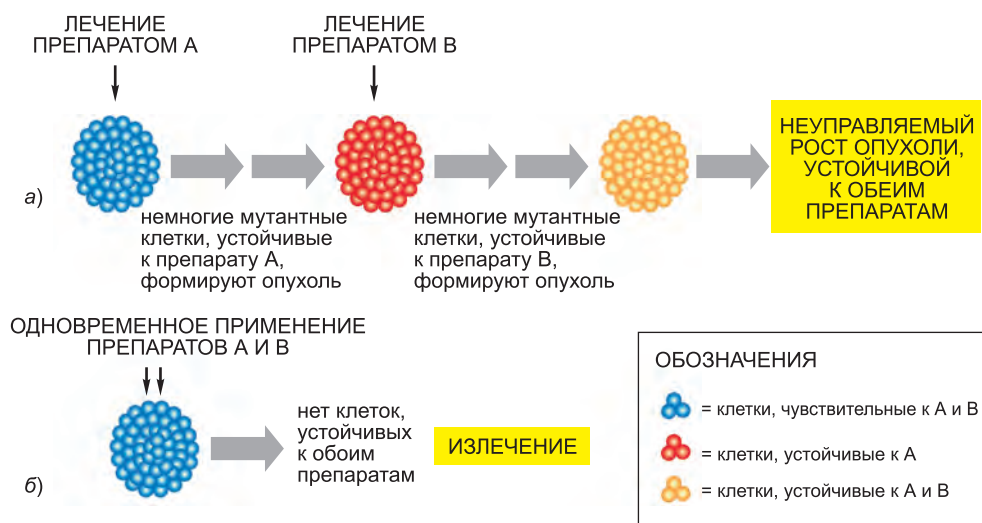


Рис. 20.53. Схема, объясняющая, почему комбинированное лекарственное лечение может быть эффективнее, чем последовательное применение лекарств. Ввиду повышенной мутабельности опухолевых клеток последовательное применение двух лекарств часто приводит к появлению клонов, устойчивых к действию обоих препаратов.

му препарату, могут размножиться, что увеличивает вероятность приобретения ими устойчивости к двум препаратам одновременно (**рис. 20.53**).

Усиление нашего «боевого запаса» против раковых клеток позволяет надеяться, что в ближайшем будущем будут разработаны эффективные методы лечения многих форм рака, основанные на одновременном применении нескольких препаратов.

20.5.10. Профилирование экспрессии генов может помочь провести клинически значимую классификацию онкологических заболеваний

В настоящее время мы можем подробно, как никогда раньше, охарактеризовать каждый случай заболевания раком на молекулярном уровне. Например, технология ДНК-чипов (см. главу 8) позволяет проследить характер экспрессии нескольких тысяч генов одновременно в одном образце раковых клеток и сравнить результаты с характером экспрессии тех же генов в нормальной контрольной ткани. Каждый случай ракового заболевания определенного типа, например рака молочной железы, будет характеризоваться своим собственным **профилем экспрессии генов**. Однако результаты сравнения таких профилей у многих пациентов позволяют разделить эти случаи на несколько групп, внутри которых профили экспрессии обладают сходными свойствами.

Чем же полезны такие молекулярные профили? Залог развития медицины — точная диагностика. Если мы не сможем правильно определить болезнь, нам не удастся раскрыть ее причины, предсказать ее исход и назначить подходящий метод лечения, если речь идет об одном пациенте. Аналогично, мы не сможем адекватно провести испытания в группе пациентов, чтобы проверить, эффективна ли та или иная процедура. Как мы видели, онкологические заболевания — это крайне неоднородная группа

болезней. Профилирование экспрессии генов позволяет сделать диагноз более точным, так как предлагает более совершенную классификацию опухолей. Стандартная классификация опирается в основном на данные гистологического анализа; как мы теперь знаем, при таком способе классификации в одну группу могут попасть опухоли, которые ведут себя совершенно по-разному. Таким образом, профилирование экспрессии генов не только позволяет идентифицировать опухоль в сомнительных случаях, но и классифицировать ее более точно. Последнее имеет немаловажные последствия для пациента. Например, анализ нескольких случаев больших диффузных В-клеточных лимфом показал, что по профилям экспрессии генов эти случаи подразделяются на два отдельных класса, не идентифицируемых гистологическим методом. В одном случае прогноз плохой; в другом — гораздо лучше. Это доказывает целесообразность такой классификации и объясняет прежние наблюдения, согласно которым при одном и том же методе лечения одни пациенты с этим заболеванием выздоравливали и выживали, а другие — нет. В настоящее время разрабатываются технологии профилирования экспрессии генов для многих форм рака, и, по-видимому, в будущем они лягут в основу новых методов диагностики и лечения онкологических заболеваний.

20.5.11. Многое еще предстоит сделать

Молекулярный анализ онкологических заболеваний поможет нам найти методы лечения, подходящие данному конкретному пациенту. Обнаружение столь многих генов, ответственных за развитие рака, положило конец тому времени, когда мы блуждали во тьме, пытаясь подобраться к молекулярным основам этой болезни. Вдохновляет то, что у онкологических заболеваний все-таки имеются некоторые общие принципы, что разные формы болезни характеризуются некоторыми общими генетическими аномалиями. Благодаря идентификации многих генов, участвующих в развитии рака, и знанию их нормальных функций, теперь мы сможем разработать точно нацеленные, логически выверенные методы лечения. Однако до сих пор природа многих распространенных форм рака человека полностью не раскрыта, и нам до сих пор недостает сведений, чтобы справиться с этой смертельно опасной болезнью. Это касается практически всех процессов, описанных в настоящей главе. Помимо прочего, требуются более совершенные методы идентификации и выделения раковых стволовых клеток, чтобы можно было беспрепятственно изучать их особые свойства и те особенности молекулярного устройства, которые делают их стволовыми. Наконец, что важнее всего, необходимо разработать методы их уничтожения — в противном случае любая терапия сведется в конечном счете к нулю.

Пациенты, излечившиеся от рака, и их родственники вот уже долгое время выступают поборниками государственного финансирования фундаментальных биомедицинских исследований. Время от времени они выражают вполне понятное недовольство тем, что методы лечения, несмотря на очевидное накопление фундаментальных сведений о природе заболевания, совершенствуются слишком медленно. Однако накопление знаний ведет к более глубокому пониманию, и мощный прорыв в лечении рака неизбежно произойдет в самое ближайшее время. Это отнюдь не пустые слова. В качестве примера можно привести следующее. За последнее время мы гораздо лучше поняли молекулярные механизмы, лежащие в основе выбора «все или ничего», который делает клетка, стоящая на грани апоптоза. Сколько времени должно пройти, прежде чем мы в достаточной степени изучим аномальную сеть сигнальных механизмов в отдельно взятой опухоли, чтобы суметь правильно выбрать комбинацию препаратов и факторов, которая селективно уничтожит все клетки именно в этой опухоли?

Оглядываясь на развитие клеточной биологии, учитывая скорость нынешнего прогресса, у нас есть основания для оптимизма. Желание разобраться и понять явление, которое движет фундаментальную науку, несомненно, приведет к открытию новых способов использовать наши знания во имя человечества. Это касается не только раковых заболеваний, но и различных инфекций, ментальных расстройств, вопросов сельского хозяйства и других областей, о которых мы даже не подозреваем.

Заключение

Наше понимание клеточной биологии онкологических заболеваний становится все более глубоким; уже сейчас это позволяет совершенствовать методы профилактики, диагностики и лечения рака. Противораковая терапия, направленная на преимущественное истребление раковых клеток, может использовать свойства, отличающие их от нормальных клеток. Среди этих свойств — зависимость раковых клеток от онкогенных белков, а также нарушение систем репарации ДНК, регуляции клеточного цикла и апоптоза. Также представляется возможным контролировать рост опухоли, лишая ее кровоснабжения и поддержки со стороны клеток стромы. Имея четкое представление о механизмах регуляции в нормальной клетке и их нарушениях в различных формах рака, мы можем разрабатывать препараты, направленно убивающие раковые клетки путем воздействия на конкретные молекулы, необходимые для роста и выживания неопластических клеток. Наконец, совершенствуя методы идентификации конкретных генетических и эпигенетических изменений в случае каждой отдельно взятой опухоли, мы сможем находить верный способ лечения, эффективный для каждого данного пациента.

Задачи

Какие утверждения верны? Обоснуйте свой ответ

20.1. Для успешного прогрессирования рака степень генетической нестабильности: точечных мутаций, хромосомных перестроек и эпигенетических изменений, должна быть максимальной.

20.2. Маловероятно, что терапия, направленная исключительно на ликвидацию быстро делящихся клеток, составляющих основную массу опухоли, полностью излечит рак.

20.3. Основными канцерогенными факторами среды являются последствия высокой индустриализации, такие как промышленное загрязнение и пищевые добавки.

20.4. Диметилбензантрацен (ДМБА) является чрезвычайно специфичным мутагеном, поскольку в 90% кожных опухолей, вызываемых им, имеют замену А—Т точно в одном и том же сайте локуса гена *Ras*.

20.5. Белки, кодируемые онкогенами, являются стимулирующими, а супрессоры — подавляющими компонентами систем регуляции роста и деления клеток.

Поразмышляйте над следующим

20.6. В отличие от рака толстой кишки, заболеваемость которым резко растет с возрастом, пик заболеваемости остеосаркомой, поражающей в основном длинные трубчатые кости, приходится на подростковый период. Остеосаркомы относительно редки у маленьких детей (до 9 лет) и у взрослых (старше 20 лет). Как вы думаете,

почему возрастная зависимость заболеваемости остеосаркомой отличается от возрастной зависимости для рака толстой кишки?

20.7. Как показано на [рис. Q20.1](#), кривые, отражающие зависимость смертности от возраста, построенные для рака молочной железы и шейки матки, сильно отличаются от аналогичной кривой для рака толстой кишки. Среди людей старше 50 лет смертность от рака молочной железы и шейки матки растет с возрастом не так быстро, однако рост смертности от рака толстой кишки не останавливается. Как вы думаете, почему рост смертности от рака молочной железы и шейки матки замедляется после 50 лет?

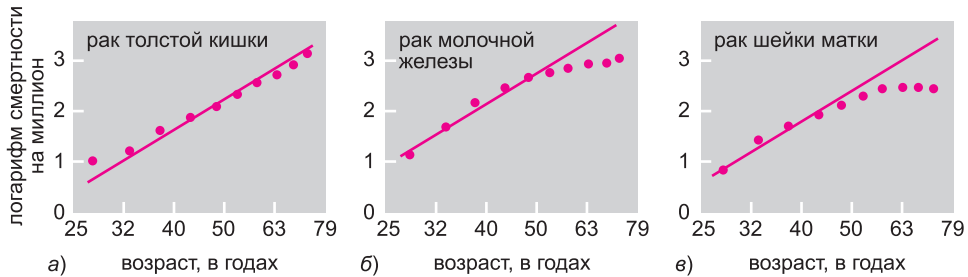


Рис. Q20.1 Возрастная зависимость смертности от рака (к задаче 20.7). а) Рак толстой кишки у женщин. б) Рак молочной железы у женщин. в) Рак шейки матки. Во всех случаях по вертикальной оси — десятичный логарифм смертности, по горизонтальной оси — возраст на момент смерти (в логарифмической шкале). Прямые линии на рисунках б и в — результат линейной регрессии по младшим возрастным группам, на рисунке а — по всем точкам. (Данные заимствованы из P. Armitage and R. Doll, *Br. J. Cancer* 91: 1983–1989, 2004. С разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

20.8. Используя аналогию с автомобилем, можно гены, ответственные за развитие рака, уподобить отказавшим тормозам и заклинившей педали газа. Такое может случиться из-за плохого техобслуживания, которое проводил небрежный механик. Развивая эту аналогию, соотнесите онкогены, гены-супрессоры и гены поддержания ДНК с отказавшими тормозами, заклинившей педалью газа и плохим механиком. Объясните свой выбор.

20.9. В Великобритании в течение 50 лет отслеживали смертность от рака легких в нескольких группах мужчин. На [рис. Q20.2](#) представлен суммарный риск умереть от рака легких в зависимости от возраста и пристрастия к курению. Всего было четыре группы: мужчины, которые никогда не курили; мужчины, бросившие курить в 30 лет; в 50 лет и те, кто курил до самой смерти. Эти данные ясно демонстрируют, что можно значительно снизить суммарный риск смерти от рака легких, бросив курить. Каково, по вашему мнению, биологическое основание этого наблюдения?

20.10. Тасманскому дьяволу, хищному австралийскому сумчатому, грозит вымирание из-за смертельной болезни, при которой на морде и в ротовой полости развивается злокачественная опухоль, не позволяющая животному питаться. Вам поручили найти причины этого необычного ракового заболевания. Вам кажется очевидным, что эта форма рака передается от одной особи к другой, скорее всего, при частых агрессивных столкновениях, в которых одной из форм нападения являются укусы в лицевую область. Чтобы выявить причину болезни, вы собрали образцы опухолей 11 тасманских дьяволов из удаленных друг от друга районов и исследовали их. Как и ожидалось, кариотипы опухолевых клеток сильно отличаются от карио-

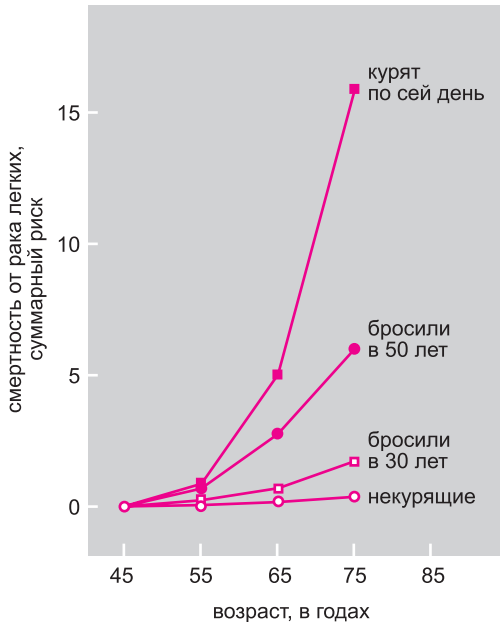


Рис. Q20.2. Суммарный риск смертности от рака легких для некурящих, курящих и бросивших курить (к задаче 20.9). Суммарный риск есть промежуточная сумма смертностей (в процентах) для каждой группы. Так, 1% курильщиков погибает в возрасте между 45 и 55 годами; еще 4% — в возрасте 55–65 лет (что дает суммарный риск 5%), и еще 11% умирает в возрасте 65–75 лет (то есть суммарный риск составляет 16%).

типа нормальных клеток (рис. Q20.3). К своему удивлению, вы обнаружили поразительное сходство кариотипов всех 11 опухолей. Более того, у одного из тасманских дьяволов обнаружилась инверсия в пятой хромосоме, отсутствующая в клетках его лицевой опухоли. Как, по-вашему, эта форма рака передается от особи к особи? Не похоже ли это на заражение вирусом или микроорганизмами? Объясните.

20.11. Теперь, когда секвенирование ДНК стало недорогой, надежной и быстрой процедурой, ваш руководитель созвал консорциум исследователей и объявил о запуске нового амбициозного проекта: проследить все мутации в нескольких человеческих опухолях. Он решил сконцентрироваться на раке молочной железы и раке толстой и прямой кишки, поскольку эти формы в совокупности ответственны за 14% смертей от рака. Для каждой из 11 раковых опухолей молочной железы и 11 раковых опухолей толстой и прямой кишки вы синтезировали праймеры для амплификации 120 839 экзонов в 14 661 транскриптах 13 023 генов. В качестве контроля вы амплифицировали те же самые участки ДНК из нормальных клеток. Вы секвенировали ПЦР-продукты и с помощью аналитического программного обеспечения сравнили 456 Мб последовательностей ДНК из опухолей с опубликованными последовательностями человеческого генома. Результаты привели вас в недоумение: обнаружилось 816 986 предполагаемых мутаций, то есть более 37 000 мутаций на одну опухоль! Очевидно, так быть не может.

Подумав немного, вы поняли, что компьютер иногда путает основания. Чтобы проверить догадку, вы просмотрели каждую из последовательностей и нашли, что можно исключить 353 738 изменений, после чего остается 463 248, или примерно 21 000 мутаций на одну опухоль. Все равно слишком много!

А. Почему вы обнаруживаете несуществующие мутации? Предложите еще хотя бы три причины.

Б. Отфильтровав по нескольким признакам несуществующие мутации, вы нашли в общем 1 307 мутаций в 22 опухолях молочной железы и толстой и прямой кишки, или примерно 59 мутаций на опухоль. Теперь вам нужно решить, какие из этих мутаций связаны с раком, а какие не имеют к нему отношения, но обнаружены в опухолях из-за того, что случайно произошли в этих же клетках. С чего вы начнете?

В. Выявит ли ваша стратегия широкомасштабного секвенирования все генетические изменения, затрагивающие целевые гены раковых клеток?

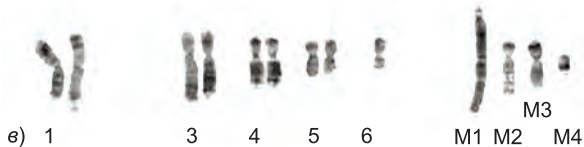
Рис. Q20.3. Кариотипы клеток тасманского дьявола (к задаче 20.10). а) Тасманский дьявол. б) Нормальный кариотип самца тасманского дьявола. Включает 14 хромосом, в том числе хромосомы X и Y. в) Кариотип раковых клеток, который оказался характерен для всех 11 исследованных лицевых опухолей тасманского дьявола. Кариотип состоит из 13 хромосом; половые хромосомы, хромосомы второй пары и одна из хромосом шестой пары отсутствуют, у хромосом первой пары отсутствуют длинные плечи, зато есть четыре маркерных хромосомы, участки которых сильно перетасованы. (Из А. М. Pearse and K. Swift, *Nature* 439: 549, 2006. С разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)



а) Тасманский дьявол



б) 1 2 3 4 5 6 XY



в) 1 3 4 5 6 M1 M2 M3

20.12. Практически все способы лечения рака направлены на ликвидацию раковых клеток, обычно путем индукции апоптоза. Однако одна из форм рака — острый промиелоцитарный лейкоз (APL) — успешно лечится транс-ретиноевой кислотой, вызывающей дифференцировку промиелоцитов в нейтрофилы. Как, по-вашему, изменение состояния дифференцированности клеток APL может помочь пациенту?

20.13. Одна из основных задач современной терапии рака — разработать низкомолекулярные противораковые препараты, которые можно было бы использовать для ингибирования белков, кодируемых конкретными генами, ответственными за рак. Если бы вы занялись такой задачей, то ингибиторы каких белков стали бы синтезировать — кодируемых онкогенами, генами-супрессорами или генами поддержки ДНК? В каждом случае объясните свой ответ.

Литература

Общая

Bishop J. M. (2004) *How to Win the Nobel Prize: An Unexpected Life in Science*. Harvard University Press: Cambridge MA.

Stillman B. & Stewart D. (eds) (2005) *Molecular Approaches to Controlling Cancer*. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor.

Weinberg R. A. (2007) *The Biology of Cancer*. Garland Science: New York.

Рак как микроэволюционный процесс

Al-Hajj M., Becker M. W., Wicha M. et al. (2004) Therapeutic implications of cancer stem cells. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14: 43–47.

Bielas J. H., Loeb K. R., Rubin B. P. et al. (2006) Human cancers express a mutator phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 18238–18242.

Cairns J. (1975) Mutation, selection and the natural history of cancer. *Nature* 255: 197–200.

Campesi J. (2005) Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors. *Cell* 120: 513–522.

Evan G.I. & Vousden K.H. (2001) Proliferation, cell cycle and apoptosis in cancer. *Nature* 411: 342–348.

Fialkow P.J. (1976) Clonal origin of human tumors. *Biochim. Biophys. Acta.* 458: 283–321.

Fidler I.J. (2003) The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nature Rev. Cancer* 3: 453–458.

Jones P.A. & Baylin S.B. (2002) The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nature Rev. Genet.* 3: 415–428.

Loeb L.A., Loeb K.R. & Anderson J.P. (2003) Multiple mutations and cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 776–781.

Lowe S.W., Cepero E. & Evan G. (2004) Intrinsic tumour suppression. *Nature* 432: 307–315.

Nowell P.C. (1976) The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 194: 23–28.

Pardal R., Clarke M.F. & Morrison S.J. (2003) Applying the principles of stem-cell biology to cancer. *Nature Rev. Cancer* 3: 895–902.

Sjjoblom T., Jones S., Wood L.D. et al. (2006) The consensus coding sequences of human breast and colorectal cancers. *Science* 314: 268–274.

Thiery J.P. (2002) Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nature Rev. Cancer* 2: 442–454.

Tlsty T.D. & Coussens L.M. (2006) Tumor Stroma and Regulation of Cancer Development. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 1: 119–150.

Ward R.J. & Dirks P.B. (2007) Cancer stem cells: at the headwaters of tumor development. *Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis.* 2: 175–189.

Профилактика рака

Ames B., Durston W.E., Yamasaki E. & Lee F.D. (1973) Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 70: 2281–2285.

Berenblum I. (1954) A speculative review: the probable nature of promoting action and its significance in the understanding of the mechanism of carcinogenesis. *Cancer Res.* 14: 471–477.

Cairns J. (1985) The treatment of diseases and the war against cancer. *Sci. Am.* 253: 51–59.

Doll R. (1977) Strategy for detection of cancer hazards to man. *Nature* 265: 589–597.

Doll R. & Peto R. (1981) The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.* 66: 1191–1308.

Hsu I.C., Metcalf R.A., Sun T. et al. (1991) Mutational hotspot in the p53 gene in human hepatocellular carcinomas. *Nature* 350: 427–428.

Newton R., Beral V. & Weiss R.A. (eds) (1999) Infections and Human Cancer. Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor.

Peto J. (2001) Cancer epidemiology in the last century and the next decade. *Nature* 411: 390–395.

Поиск генов, связанных с раковыми заболеваниями

Davies H., Bignell G.R., Cox C. et al. (2002) Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 417: 949–954.

Easton D. F., Pooley K. A., Dunning A. M. et al. (2007) Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* 447: 1087–1095.

Feinberg A. P. (2007) Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature* 447: 433–440.

Herman J. G. & Baylin S. B. (2003) Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N. Engl. J. Med.* 349: 2042–2054.

Lowe S. W., Cepero E. & Evan G. (2004) Intrinsic tumour suppression. *Nature* 432: 307–315.

Mitelman F., Johansson B. & Mertens F. (2007) The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. *Nature Rev. Cancer* 7: 233–245.

Pinkel D. & Albertson D. G. (2005). Comparative genomic hybridization. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 6: 331–354.

Rowley J. D. (2001) Chromosome translocations: dangerous liaisons revisited. *Nature Rev. Cancer* 1: 245–250.

The Wellcome Trust Case Control Consortium (2007) Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 447: 661–683.

Westbrook T. F., Stegmeier F. & Elledge S. J. (2005) Dissecting cancer pathways and vulnerabilities with RNAi. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 70: 435–444.

Молекулярные основы поведения раковых клеток

Artandi S. E. & DePinho R. A. (2000) Mice without telomerase: what can they teach us about human cancer? *Nature Med.* 6: 852–855.

Brown J. M. & Attardi L. D. (2005) The role of apoptosis in cancer development and treatment response. *Nature Rev. Cancer* 5: 231–237.

Chambers A. F., Naumov G. N., Vantyghem S. & Tuck A. B. (2000) Molecular biology of breast cancer metastasis: clinical implications of experimental studies on metastatic inefficiency. *Breast Cancer Res.* 2: 400–407.

Edwards P. A. W. (1999) The impact of developmental biology on cancer research: an overview. *Cancer Metastasis Rev.* 18: 175–180.

Futreal P. A., Coin L., Marshall M. et al. (2004) A census of human cancer genes. *Nature Rev. Cancer* 4: 177–183.

Hanahan D. & Weinberg R. A. (2000) The hallmarks of cancer. *Cell* 100: 57–70.

Hoffman R. M. (2005) The multiple uses of fluorescent proteins to visualize cancer in vivo. *Nature Rev. Cancer* 5: 796–806.

Kinzler K. W. & Vogelstein B. (1996) Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cell* 87: 159–170.

Levine A. J., Hu W. & Feng Z. (2006) The P53 pathway: what questions remain to be explored? *Cell Death Differ.* 13: 1027–1036.

Macleod K. F. & Jacks T. (1999) Insights into cancer from transgenic mouse models. *J. Pathol.* 187: 43–60.

Mani S. A., Yang J., Brooks M. et al. (2007) Mesenchyme Forkhead 1 (FOXC2) plays a key role in metastasis and is associated with aggressive basal-like breast cancers. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 10069–10074.

Mueller M. M. & Fusenig N. E. (2004) Friends or foes—bipolar effects of the tumour stroma in cancer. *Nature Rev. Cancer* 4: 839–849.

Plas D. R. & Thompson C. B. (2005) Akt-dependent transformation: there is more to growth than just surviving. *Oncogene* 24: 7435–7442.

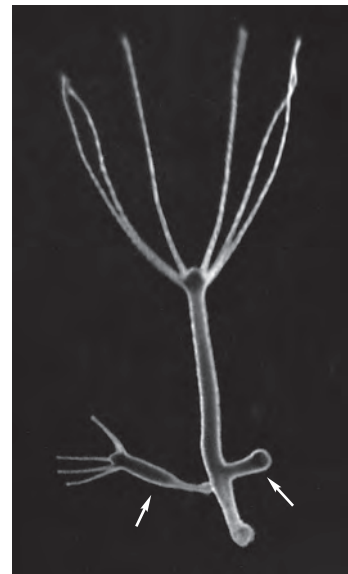
- Ridley A. (2000) Molecular switches in metastasis. *Nature* 406: 466–467.
- Shaw R.J. & Cantley L.C. (2006) Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature* 441: 424–430.
- Sherr C.J. (2006) Divorcing ARF and p53: an unsettled case. *Nature Rev. Cancer* 6: 663–673.
- Vogelstein B. & Kinzler K.W. (2004) Cancer genes and the pathways they control. *Nature Med.* 10: 789–799.
- Weinberg R.A. (1995) The retinoblastoma protein and cell-cycle control. *Cell* 81: 323–330.

Лечение рака: сегодня и завтра

- Alizadeh A. A., Eisen M. B., Davis R. E. et al. (2000). Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 403: 503–511.
- Baselga J. & Albanell J. (2001) Mechanism of action of anti-HER2 monoclonal antibodies. *Annu. Oncol.* 12: S35–S41.
- Druker B.J. & Lydon N.B. (2000) Lessons learned from the development of an abl tyrosine kinase inhibitor for chronic myelogenous leukemia. *J. Clin. Invest.* 105: 3–7.
- Folkman J. (1996) Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci. Am.* 275: 150–154.
- Golub T.R., Slonim D.K., Tamayo P. et al. (1999) Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* 286: 531–537.
- Huang P. & Oliff A. (2001) Signaling pathways in apoptosis as potential targets for cancer therapy. *Trends Cell Biol.* 11: 343–348.
- Garraway L.A. & Sellers W.R. (2006) Lineage dependency and lineage-survival oncogenes in human cancer. *Nature Rev. Cancer* 6: 593–602.
- Jonkers J. & Berns A. (2004) Oncogene addiction: sometimes a temporary slavery. *Cancer Cell* 6: 535–538.
- Jain R.K. (2005) Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* 307: 58–62.
- Kim R., Emi M. & Tanabe K. (2007) Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology* 121: 1–14.
- Madhusudan S. & Middleton M.R. (2005) The emerging role of DNA repair proteins as predictive, prognostic and therapeutic targets in cancer. *Cancer Treat Rev.* 31: 603–617.
- Roninson I.B., Abelson H.T., Housman D.E. et al. (1984) Amplification of specific DNA sequences correlates with multi-drug resistance in Chinese hamster cells. *Nature* 309: 626–628.
- Sarkadi B., Homolya L., Szakacs G. & Varadi A. (2006) Human multidrug resistance ABCB and ABCG transporters: participation in a chemoimmunity defense system. *Physiol. Rev.* 86: 1179–236.
- Sawyers C. (2004) Targeted cancer therapy. *Nature* 432: 294–297.
- van 't Veer U., Dai H., van de Vijver M.J. et al. (2002) Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer. *Nature* 415: 530–536.
- Varmus H., Pao W., Politi K. et al. (2005) Oncogenes come of age. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 70: 1–9.
- Ventura A., Kirsch D.G., McLaughlin M.E. et al. (2007) Restoration of p53 function leads to tumour regression in vivo. *Nature* 445: 661–665.

Половое размножение: мейоз, половые клетки и оплодотворение

Наличие пола у организма не является абсолютной необходимостью. Одноклеточные организмы могут размножаться с помощью простого митотического деления, а многие растения размножаются вегетативно, формируя многоклеточные побеги, которые впоследствии отделяются от родительской особи. Что касается многоклеточных животных, то *гидры*, к примеру, могут давать потомство с помощью почкования (рис. 21.1), а морские анемоны и морские черви могут разделяться на два полуорганизма, каждый из которых потом восстанавливает недостающую часть. Существует даже разновидность ящериц, состоящая исключительно из женских особей, которые размножаются без спаривания. Хотя такое «бесполое» размножение является простым и прямым, оно воспроизводит потомство, генетически идентичное родительской особи. При **половом размножении**, напротив, геномы двух индивидуальных организмов смешиваются и потомки генетически отличаются друг от друга и от обоих родителей. Несомненно, этот способ воспроизведения имеет множество преимуществ, поэтому подавляющее большинство растений и животных размножается именно этим путем. Даже у многих прокариотических и эукариотических организмов, размножающихся обычно бесполом способом, в редких случаях происходит обмен генетической информацией, в результате чего получается потомство с новой комбинацией генов. В этой главе описывается клеточный механизм полового размножения. Однако, прежде чем подробно обсуждать работу этого механизма, мы кратко рассмотрим, что включает в себя половое размножение и каковы его преимущества.



0,5 мм

Рис. 21.1. Гидра, от которой отпочковываются две новые особи (указаны стрелками). Потомки генетически идентичны родительскому организму; они в конце концов отделяются и переходят к независимому существованию. (С любезного разрешения Amata Hornbruch.)

21.1. Половое размножение

Половое размножение встречается у **диплоидных** организмов, каждая клетка которых содержит два набора хромосом, по одному от каждого родителя. Впрочем, специализированные клетки, отвечающие за половое размножение, **гаплоидны**; то есть каждая из них содержит только один набор хромосом. На последней стадии полового размножения гаплоидная клетка одной особи сливается с гаплоидной клеткой другой, при этом смешиваются два генома и восстанавливается диплоидное состояние. Половое размножение, таким образом, нуждается в особом типе клеточного деления, который называется *мейоз*, при котором из диплоидной клетки-предшественника получаются гаплоидные дочерние клетки, а не диплоидные клетки, как бывает при обычном митозе.

При половом размножении многоклеточных организмов гаплоидные клетки, образованные мейозом, развиваются в высокоспециализированные **гаметы** — *яйцеклетки*, *сперматозоиды*, *пыльцу* или *споры*. У животных женские особи обычно производят большие и неподвижные яйцеклетки (яйца), тогда как мужские особи обычно производят маленькие и подвижные сперматозоиды (**рис. 21.2**). При *оплодотворении* гаплоидные сперматозоиды сливаются с гаплоидными яйцеклетками и образуют диплоидную клетку (оплодотворенное яйцо, или *зиготу*), которая содержит новые комбинации хромосом. Зигота затем развивается в новый многоклеточный организм, многократно проходя циклы обычного митотического деления, после чего следует клеточная специализация, в том числе происходит образование гамет (**рис. 21.3, а**).

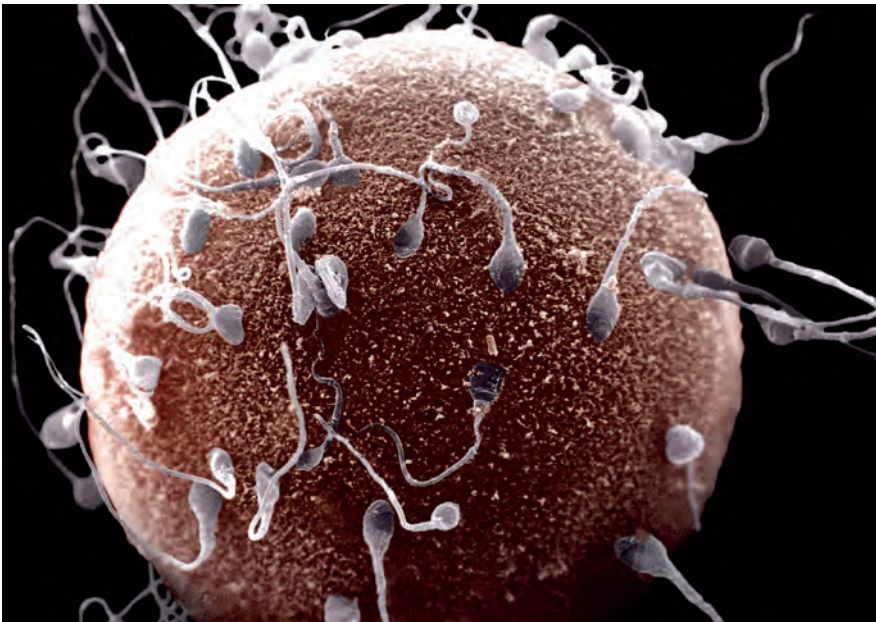


Рис. 21.2. Яйцеклетка и сперматозоиды человека, связавшиеся с ее поверхностью; микрофотография, полученная методом сканирующей электронной микроскопии. Сперматозоиды чрезвычайно подвижны, в то время как яйцеклетка не может самостоятельно передвигаться. Только один из множества достигших яйцеклетки сперматозоидов сможет оплодотворить ее (см. далее). (С любезного разрешения D. Phillips/Science Photo Library.)

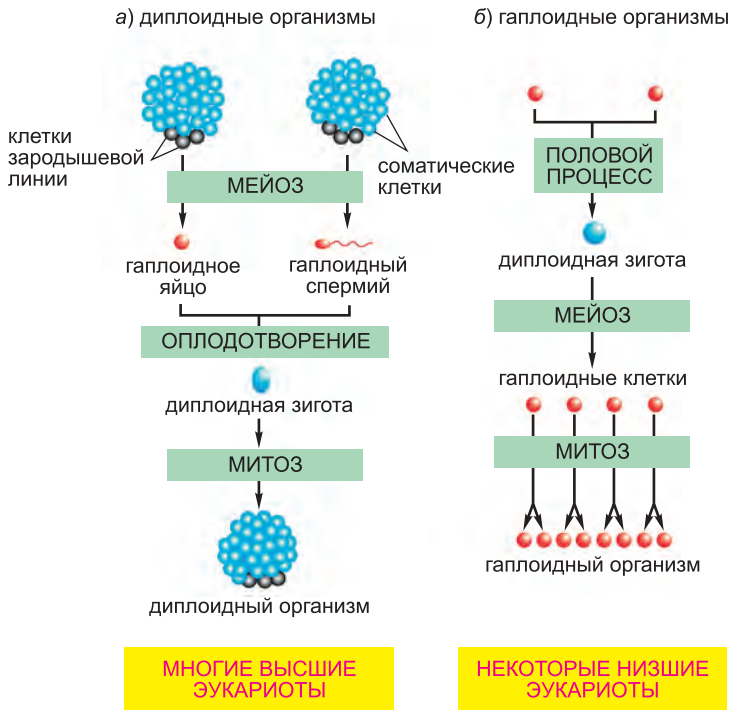


Рис. 21.3. Чередование гаплоидных и диплоидных стадий в жизненных циклах некоторых низших и высших эукариот. Гаплоидные клетки показаны *красным*, диплоидные — *синим*. *а*) В большинстве случаев клетки, образующие многоклеточный организм, будь то животное или растение, — диплоидные; гаплоидными являются лишь гаметы (у млекопитающих — яйцеклетки и сперматозоиды), при оплодотворении они сливаются, формируя диплоидную зиготу. Из зиготы затем развивается новый организм. Гаметы развиваются в половых железах (гонадах) из клеток зародышевой линии (указаны серым); все остальные клетки организма называются соматическими. *б*) У некоторых низших эукариот, напротив, размножаются именно гаплоидные клетки, а единственной диплоидной клеткой является зигота, которая существует очень недолго после оплодотворения.

21.1.1. Гаплоидная фаза у высших эукариот непродолжительна

У большинства организмов, размножающихся половым путем, диплоидные клетки размножаются митотически, а гаплоидные клетки, сформированные мейозом, не подвергаются делению. Некоторые простые организмы, например делящиеся дрожжи, являются исключением: их гаплоидные клетки размножаются митотически, а диплоидные клетки образуются путем слияния гаплоидных клеток и сразу переходят к мейозу для производства гаплоидных клеток (рис. 21.3, б). У растений подвергаются делению и гаплоидные, и диплоидные клетки. У всех растений, за исключением низших, таких как мхи и папоротники, гаплоидная фаза очень короткая, зато почти все развитие и пролиферация клеток происходит в диплоидной фазе.

Почти у всех животных, включая позвоночных, пролиферируют только диплоидные клетки: гаплоидные гаметы существуют очень недолго, не делятся вовсе и специализируются на половом размножении. У этих организмов существует различие между клетками **зародышевой линии** (или **клетками зародышевого пути**),

которые представляют собой гаметы и их специализированные диплоидные предшественники, и **соматическими клетками**, составляющими остальную часть организма (см. рис. 21.3, *a*). В известном смысле соматические клетки существуют лишь для того, чтобы помочь зародышевым клеткам выжить, размножиться и передать свою ДНК следующим поколениям.

21.1.2. Мейоз обеспечивает генетическое многообразие

Организмы, воспроизводящиеся половым путем, наследуют два полных набора хромосом, по одному от каждого родителя. Каждый набор содержит *аутосомы*, одинаковые для всех особей вида, и *половые хромосомы*, распределенные соответственно полу индивидуума. Следовательно, каждое диплоидное ядро содержит две очень похожие версии каждой аутосомы, плюс набор половых хромосом, соответствующий полу индивидуума. Две копии каждой аутосомы, одна от матери и одна от отца, называются **гомологичными хромосомами**, или **гомологами**, и у большинства клеток они ведут раздельное существование как независимые хромосомы. Однако во время мейоза каждая хромосома конъюгирует со своим единственным гомологом, и происходит генетическая рекомбинация. Такое спаривание необходимо, чтобы при мейозе гомологи безошибочно разошлись по двум различным дочерним клеткам.

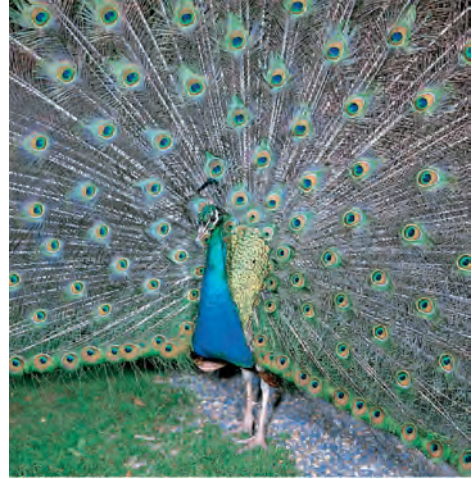
Характерной чертой мейоза является то, что в результате него образуются гаплоидные клетки, генетически отличные друг от друга и от двух гаплоидных клеток, давших жизнь этому организму. Генетические отличия одной клетки от другой обеспечиваются двумя механизмами. Во-первых, каждая отдельная гамета содержит либо материнскую, либо отцовскую копию хромосомы. Поскольку выбор материнской или отцовской хромосомы для каждой пары гомологов независим и случаен, перестановки первоначальных материнских и отцовских хромосом приводят к образованию новых, ранее не существовавших комбинаций. Во-вторых, хотя материнские и отцовские копии каждой хромосомы содержат похожие последовательности ДНК, они не являются идентичными и подвергаются генетической рекомбинации во время мейоза — этот процесс называется *кроссинговер* (подробнее — в главе 5); при этом возникают новые гибридные варианты каждой хромосомы. Таким образом, каждая хромосома в гамете содержит уникальную смесь генетической информации обоих родителей. Далее мы обсудим оба этих механизма более подробно (см. рис.21.13).

21.1.3. Половое размножение делает организмы более конкурентоспособными

Механизм полового размножения сложен и требует больших затрат (**рис. 21.4**). В чем же его преимущество и почему он возник в процессе эволюции? Потомки особи, размножающейся половым путем, различны, и вероятность того, что генотип того или иного потомка будет лучше родительского, не больше, чем вероятность рождения менее приспособленного отпрыска. В чем же тогда состоит их эволюционное преимущество перед теми организмами, которые успешно размножаются бесполом путем? Этот вопрос до сих пор озадачивает эволюционных биологов.

Одно из преимуществ полового размножения заключается в том, что комбинаторное перемешивание генов помогает виду выжить в непредсказуемо изменяющихся условиях. Если два родителя производят много потомков с большим разнообразием генных комбинаций, вероятность того, что хотя бы один из их потомков будет

Рис. 21.4. Павлин, демонстрирующий свой роскошный хвост. Экстравагантное оперение помогает привлечь самок, то есть служит целям полового размножения. Оно возникло в результате полового отбора. (С любезного разрешения Cyril Laubscher.)



иметь качества, необходимые для будущего выживания в изменяющейся окружающей среде, увеличивается. В самом деле, популяция почкующихся дрожжей, генетически модифицированных так, что они не могут подвергаться генетической рекомбинации при мейозе, и не способных к половому размножению, гораздо хуже адаптируется к суровым условиям среды, чем популяция дикого типа, которые размножаются половым путем.

Еще одно преимущество полового размножения — способность отсеивать неадаптивные варианты генов из популяции: как правило, самки спариваются с наиболее приспособленными самцами, так что наименее приспособленные самцы не оставляют потомства и являются лишь своеобразным генетическим мусором. Этот строгий отбор между самцами означает, что «хорошие» гены передаются по наследству, а «плохие» гены выводятся из популяции более эффективно, чем каким-либо другим способом. В результате члены одной популяции, размножающейся половым путем, в среднем имеют лучшие показатели здоровья, чем члены похожей популяции, размножающиеся бесполом путем.

Какими бы ни были преимущества полового размножения, показательно, что все существующие в настоящее время сложноустроенные организмы эволюционировали по большей части путем приобретения механизма полового размножения. Бесполое размножение, несмотря на свою многочисленность, осталось относительно примитивными.

Сейчас мы возвратимся к клеточным механизмам полового размножения, начиная с описания мейоза. Потом мы сосредоточим наше обсуждение преимущественно на млекопитающих. В первую очередь мы рассмотрим диплоидные клетки зародышевой линии, которые образуют гаметы, а также определение пола у млекопитающих. Затем обсудим природу самих гамет. В конце главы мы рассмотрим процесс оплодотворения, в котором яйцеклетка и сперматозоид сливаются, чтобы сформировать новый диплоидный организм.

Заключение

Цикл полового размножения представляет собой чередование диплоидной и гаплоидной стадий: диплоидная клетка делится мейотически с образованием гаплоидных клеток, а гаплоидные клетки двух организмов сливаются попарно, чтобы образовать новую диплоидную клетку — зиготу. При этом геномы смешиваются и рекомбинируют, и возникают организмы, обладающие уникальной генетической информацией. У большинства высших эукариот диплоидные клетки делятся митотически, и лишь небольшое их количество (клетки зародышевой линии) подвергается мейозу для производства гаплоидных клеток; эти

клетки развиваются в гаметы, специализированные для полового размножения, которые существуют недолго и не делятся. Половое размножение обеспечивает организмам селективное преимущество, так как в результате него образуются особи с новой комбинацией генов, некоторые из которых способны выживать и оставлять потомство в непредсказуемо изменяющихся условиях окружающей среды. Кроме того, половое размножение обеспечивает эффективный путь отбора из популяции вредных мутаций.

21.2. Мейоз

Понимание того факта, что половые клетки гаплоидны, пришло в результате наблюдений, которые к тому же навели на мысль, что генетическая информация содержится именно в хромосомах. В 1883 г. обнаружено, что ядра неоплодотворенной яйцеклетки и сперматозоида определенного вида круглых червей содержат лишь по две хромосомы, в то время как в оплодотворенном яйце (зиготе) их уже четыре. Это привело к созданию хромосомной теории наследственности, которая объяснила давний парадокс, состоящий в том, что роль отца и матери в определении признаков потомства часто кажется одинаковой, несмотря на огромную разницу в размерах яйцеклетки и сперматозоида (см. рис. 21.2).

Еще один важный смысл упомянутого открытия состоял в том, что половые клетки должны формироваться в результате клеточного деления особого типа, при котором весь набор хромосом делится точно пополам. Деление такого типа носит название **мейоза** (слово греческого происхождения, означающее «уменьшение»); у животных таким образом делятся диплоидные клетки зародышевой линии в семенниках и яичниках. Может показаться, что мейоз является просто разновидностью митоза, в которой отсутствует фаза удвоения ДНК (S-фаза), а в результате единственного деления исходной диплоидной клетки образуются два гаплоидных потомка. Однако мейоз — процесс гораздо более сложный, поскольку включает в себя не одно деление, а два, на которые приходится лишь один цикл удвоения ДНК. Важнейшие особенности мейотического деления удалось установить только к началу 30-х гг. в результате огромного числа тщательных исследований, объединивших цитологию и генетику. Недавно в молекулярно-генетических исследованиях обнаружены первые белки, характерные для мейоза; эти молекулы заставляют хромосомы вести себя иначе, чем при митозе, и опосредуют важнейший мейотический процесс — рекомбинацию. Как мы увидим, рекомбинация не только приводит к перетасовке генов, но также необходима для правильного расхождения хромосом при мейозе.

21.2.1. Гаметы возникают в результате двух делений мейоза

В мейозе широко используются механизмы и системы регуляции обычного митоза. В этой главе мы будем иметь дело в первую очередь с теми характеристиками мейоза, которые отличают его от митоза. Как и митоз, мейоз начинается с удвоения ДНК хромосом (мейотическая S-фаза), причем две копии хромосомы оказываются связанными друг с другом по всей длине при помощи *когезиновых комплексов* (см. рис. 17.24) и носят название **сестринских хроматид**. Однако мейоз, в отличие от митоза, должен производить гаметы, содержащие вдвое меньше хромосом, чем их диплоидные предшественники. Для этого митотическая программа преобразуется таким образом, что за одним циклом удвоения ДНК следуют два цикла расхождения хромосом (рис. 21.5, а). Вспомним, что при митозе удвоенные хромосомы выстраиваются случайным образом

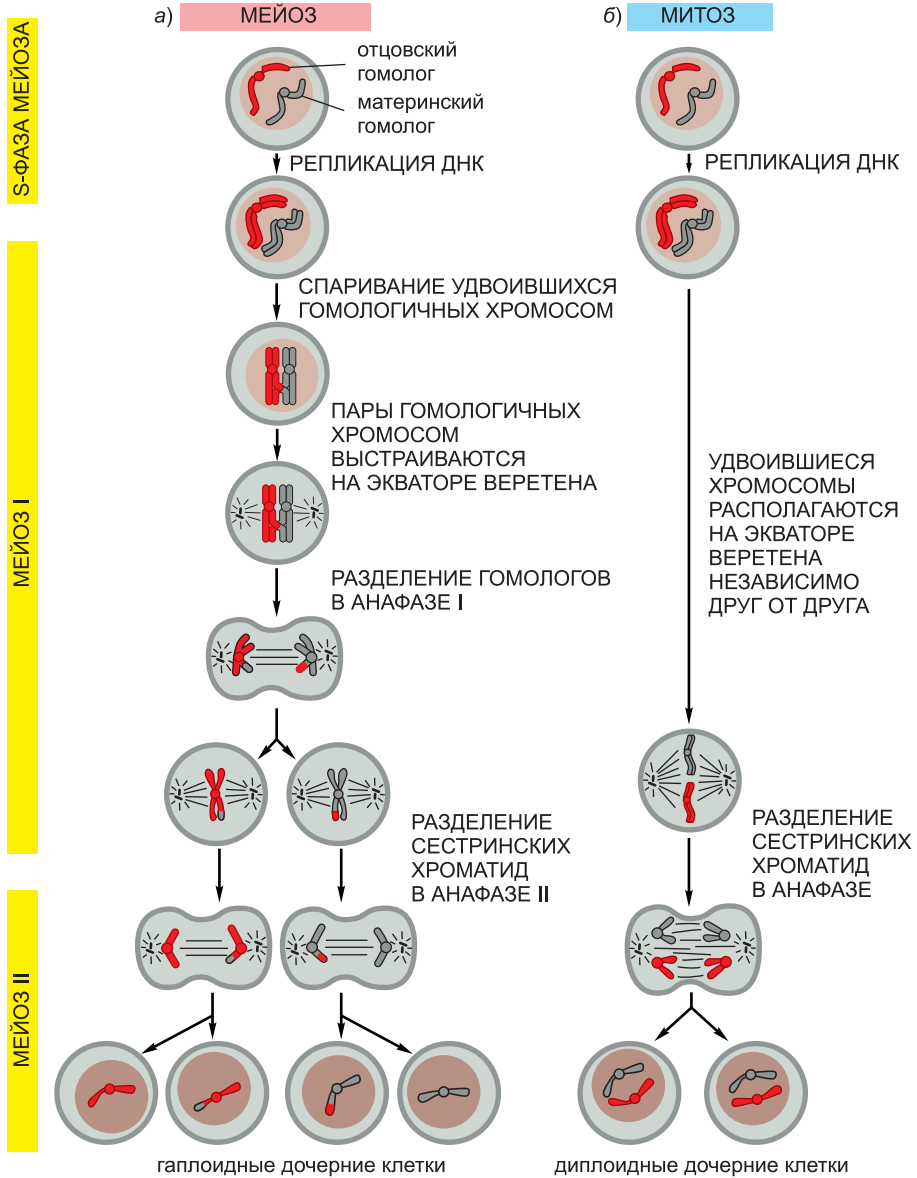


Рис. 21.5. Сравнение мейоза и митоза. Для простоты показана только одна пара гомологичных хромосом. а) Для производства гаплоидных гамет в процессе мейоза после удвоения ДНК должны произойти два последовательных деления. В первом делении мейоза удвоившиеся гомологичные хромосомы, каждая из которых теперь состоит из двух прочно связанных сестринских хроматид, объединяются в пары, а затем расходятся по разным дочерним клеткам; хроматиды расходятся лишь во втором делении мейоза. Спаривание гомологичных хромосом в мейозе I сопровождается генетической рекомбинацией, или кроссинговером (на рисунке это символизируется появлением серо-красных хромосом). Таким образом, каждая диплоидная клетка, вступившая в мейоз, продуцирует четыре генетически различные гаплоидные клетки. б) В митозе, напротив, спаривания гомологичных хромосом не происходит, а сестринские хроматиды расходятся по разным клеткам в ходе единственного деления. То есть каждая митотически делящаяся диплоидная клетка порождает две генетически идентичные дочерние клетки.

в экваториальной плоскости веретена деления, после чего сестринские хроматиды, отделившись друг от друга, расходятся по разным клеткам, причем каждая дочерняя клетка, унаследовавшая полный диплоидный набор хромосом, генетически идентична родительской клетке (рис. 21.5, б). В первом делении мейоза, напротив, удвоившиеся отцовские и материнские гомологичные хромосомы (в том числе две дублированные половые хромосомы) соединяются друг с другом и обмениваются генетической информацией; этот процесс называется генетической рекомбинацией. Затем они выстраиваются по экватору мейотического веретена, после чего именно дублированные гомологи, а не сестринские хроматиды, расходятся по разным дочерним клеткам. Хроматиды расходятся лишь во втором делении мейоза, в результате которого образуются гаплоидные клетки, поскольку между двумя делениями репликации ДНК не происходит. Таким образом, каждая диплоидная клетка, вступающая в мейоз, дает начало четырем гаплоидным клеткам, каждая из которых наследует лишь одну копию каждой хромосомы — либо материнскую, либо отцовскую (см. рис. 21.5, а).

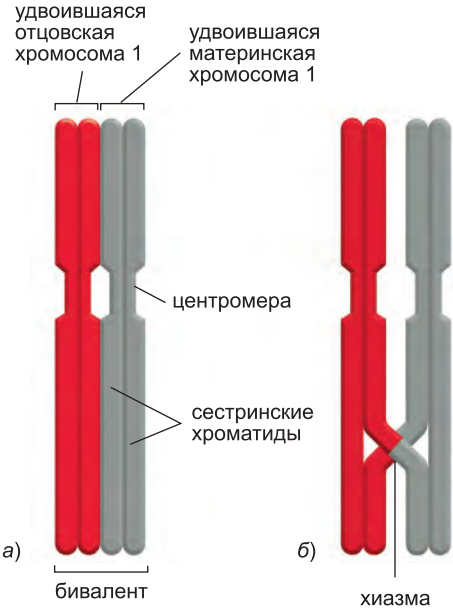
21.2.2. В профазе I удвоенные гомологи (в том числе половые хромосомы) спариваются друг с другом

У большинства организмов гомологичные хромосомы при митозе ведут себя совершенно независимо друг от друга. Существенное отличие первого деления мейоза состоит в том, что гомологи распознают друг друга и соединяются в пары, и это позволяет материнским и отцовским гомологам обменяться генетическим материалом и в анафазе I разойтись по разным дочерним клеткам. Для этого существуют специальные механизмы.

Постепенное схождение гомологов происходит во время длительной профазы мейоза (профазы I), которая у дрожжей может занимать часы, у мышей — сутки, а у высших растений — недели. Подобно митотическим хромосомам, удвоенные профазные мейотические хромосомы сначала имеют вид длинных нитеобразных структур, в которых сестринские хроматиды столь тесно связаны друг с другом, что выглядят как единое целое. Именно в начале профазы I гомологичные хромосомы начинают **конъюгировать**, то есть связываться друг с другом по всей своей длине. По крайней мере у некоторых организмов этот процесс начинается с взаимодействия комплементарных последовательностей ДНК (так называемых *сайтов конъюгации*) на двух гомологах. Большинству организмов для прочного спаривания требуется генетическая рекомбинация между гомологами. Далее гомологи более тесно связываются друг с другом, образуя структуру, состоящую из четырех хроматид и называемую *бивалентом* (см. рис. 21.6, а). Как мы обсудим ниже, процесс генетической рекомбинации начинается по мере спаривания в ранней профазе I и сопровождается образованием двухцепочечных разрывов ДНК хроматид; некоторые из этих событий в дальнейшем приведут к *кроссинговеру*, при котором фрагмент отцовской хроматиды обменивается на соответствующий фрагмент гомологичной материнской хроматиды (рис. 21.6, б; см. также рис. 5.64).

Спаривание гомологов требует перемещения хромосом, однако что именно движет их, пока неизвестно. Основные перераспределения реплицированных хромосом в ядре происходят в течение профазы I. Концы хромосом (*теломеры*) прочно связаны с внутренней поверхностью ядерной оболочки. Сначала они диффузно распределены по оболочке, затем на некоторое время концентрируются в одной точке, после чего снова равномерно распределяются (рис. 21.7). Ни механизм, ни роль этих перемещений неизвестны, хотя считается, что они делают профазу I

Рис. 21.6. Спаривание гомологичных хромосом и кроссинговер. а) Структура, которую образуют две сблизившиеся дуплицированные гомологичные хромосомы, называется *бивалентом*. Так же как и при митозе, сестринские хроматиды прочно связаны друг с другом по всей своей длине. На этой стадии гомологичные хромосомы объединяет белковый *синаптонемный комплекс* (не показан; см. рис. 21.9). б) Бивалент на более поздней стадии. На одном из его участков происходит кроссинговер между несестринскими хроматидами. Кроссинговер можно наблюдать в микроскоп лишь в конце профазы I, после того как синаптонемный комплекс будет разобран, а спаренные гомологичные хромосомы начнут расходиться: на этой стадии становятся заметны редкие перекресты гомологичных хромосом — такие структуры называются *хиазмами*.



более быстрой и эффективной. Возможно, что они позволяют избежать перепутывания хромосом в течение профазы I. У делящихся дрожжей без этих перемещений не происходит конъюгации и кроссинговера, но у других организмов передвижение теломер происходит в тот момент, когда спаривание уже идет полным ходом.

Мы описали конъюгацию гомологичных аутосом в профазе I мейоза, но что происходит в это время с половыми хромосомами? У разных организмов — по-разному. Самки млекопитающих имеют две X-хромосомы, которые конъюгируют и расходятся аналогично другим. Однако у самцов есть одна X- и одна Y-хромосома. Они не гомологичны друг другу, но чтобы правильно разойтись в анафазе I, они

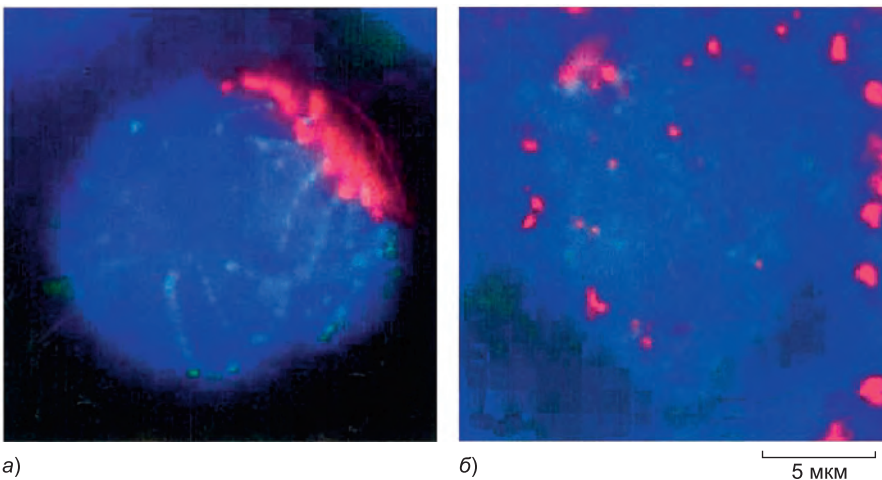


Рис. 21.7. Перераспределение теломер в профазе деления в ядре яйцеклетки коровы. Ядро окрашено синим, теломеры — красным. В течение профазы I теломеры связаны с внутренней поверхностью оболочки ядра. Сначала они равномерно распределены по всей оболочке (не показано), затем собираются в одном ее участке (а); наконец, в конце профазы I они снова расходятся по оболочке (б). (Из С. Pfeifer et al., *Dev. Biol.* 255: 206–215, 2003. С разрешения издательства Elsevier.)

в профазе также должны конъюгировать и претерпеть кроссинговер. Конъюгация, кроссинговер и расхождение возможны благодаря маленькому участку гомологии между X- и Y-хромосомами, находящемуся на одном или обоих концах этих хромосом. В результате обеспечивается правильное распределение хромосом, в результате которого каждый сперматозоид унаследует одну X- либо одну Y-хромосому, ни один сперматозоид не останется без половой хромосомы и ни один не будет содержать обе. Таким образом, в норме вырабатывается лишь два типа сперматозоидов: содержащие одну Y-хромосому, при успешном оплодотворении дающие начало самцу, и содержащие одну X-хромосому, приводящие к развитию самки.

21.2.3. Конъюгация гомологов завершается образованием синаптонемного комплекса

При конъюгации гомологи сходятся на близкое расстояние: их структурные оси (боковые элементы) отстоят друг от друга примерно на 400 нм. У большинства видов в этом участвуют запрограммированные двухцепочечные разрывы ДНК на сестринских хроматидах. Что же тянет их друг к другу? Возможно, что связыванию гомологов способствует большой белковый *рекомбинационный комплекс*, который собирается в местах двухцепочечных разрывов ДНК и связывается с соответствующей последовательностью ДНК на находящемся неподалеку гомологе, в результате чего гомологи притягиваются друг к другу. Такое *предсинаптическое выравнивание* гомологов предшествует *синапсису*, при котором боковые элементы гомологов прочно связываются друг с другом тесно расположенными *поперечными филаментами* (осевым элементом) и образуют таким образом **синаптонемный комплекс**. Этот комплекс заполняет примерно 100-нанометровый промежуток между гомологами (**рис. 21.8**).

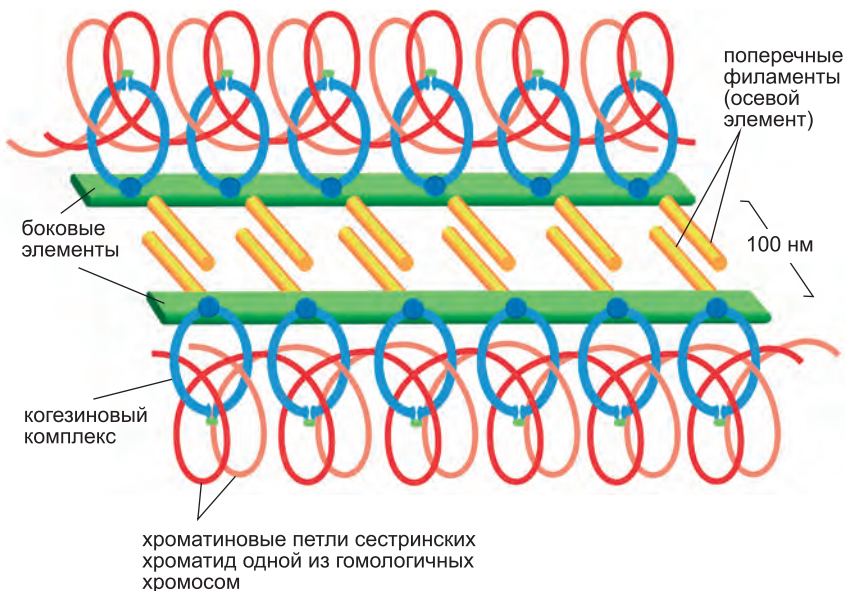


Рис. 21.8. Упрощенная схема строения синаптонемного комплекса. После образования синаптонемного комплекса в местах двухцепочечных разрывов ДНК сестринских хроматид происходит сборка рекомбинационных комплексов, осуществляющих кроссинговер между несестринскими хроматидами (не показано). (Из K. Nasmyth, *Annu. Rev. Genet.* 35: 673–745, 2001, с изменениями. С разрешения Annual Reviews.)

Хотя кроссинговер начинается еще до сборки синаптонемного комплекса, его конечные стадии происходят, когда ДНК уже встроена в белковый комплекс (см. главу 5).

На основании морфологических изменений, происходящих при конъюгации мейотических хромосом, профазу I можно подразделить на пять последовательных стадий: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена и диакинез. Как показано на **рис. 21.9**, профазу I начинается с *лептотены*, в которой гомологи компактизуются и конъюгируют, и начинается генетическая рекомбинация. В *зиготене* в отдельных участках вдоль гомологичных хромосом начинает собираться синаптонемный комплекс, причем прежде всего сборка происходит там, где гомологи тесно сошлись, и между ними началась рекомбинация. На стадии *пахитены* сборка комплекса завершается, и гомологи оказываются связанными друг с другом по всей длине. Эта стадия может

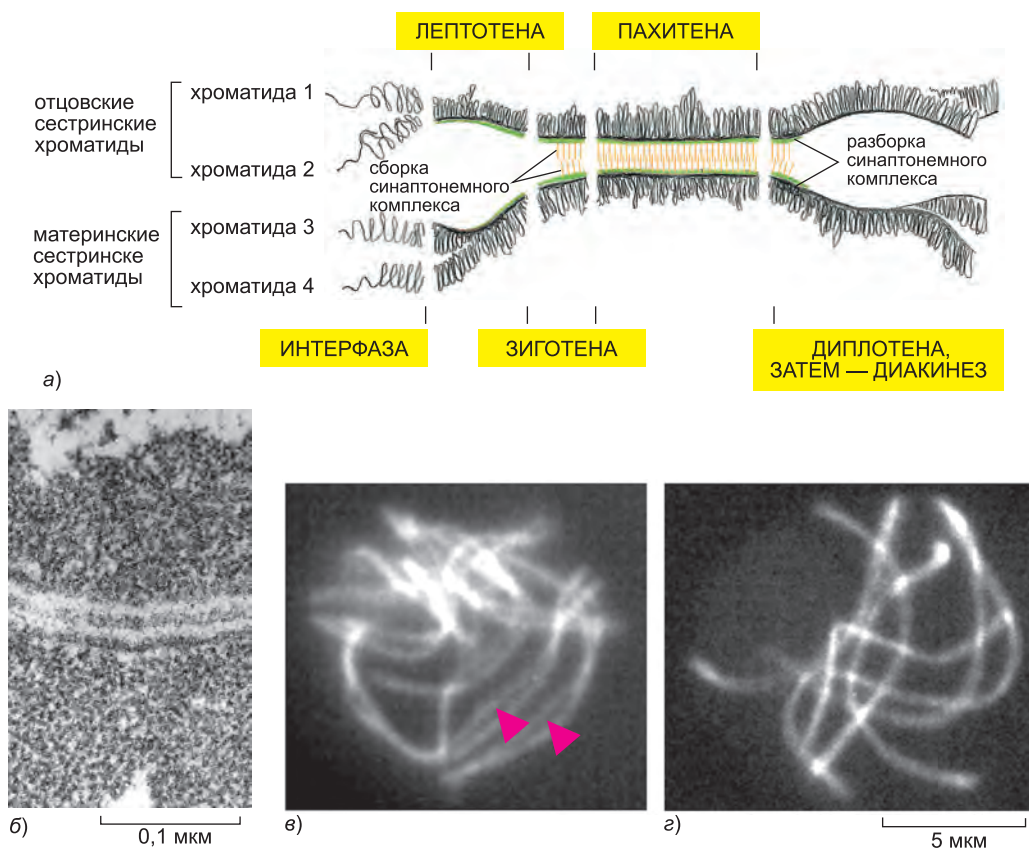


Рис. 21.9. Объединение и разъединение гомологичных хромосом на разных стадиях профазы I. а) Схема бивалента. В лептотене две сестринские хроматиды соединяются в единое целое; их хроматиновые петли отходят от общего бокового элемента. Сборка синаптонемного комплекса начинается на ранних этапах зиготены и завершается в пахитене. В диплотене комплекс разбирается. б) Электронная микрофотография синаптонемного комплекса в клетке цветка белой лилии, находящейся в стадии пахитены I мейоза. в и г) Клетки гриба *Sordaria*, находящиеся в профазе I мейоза. Микрофотографии получены методом иммунофлуоресценции. Видны частично соединенные друг с другом биваленты в зиготене (в) и полностью соединенные биваленты (г). Красными стрелками указаны участки, в которых биваленты еще не сошлись. (б, с любезного разрешения Brian Wells; в и г: из A. Storlazzi et al., *Genes Dev.* 17: 2675–2687, 2003. С разрешения Cold Spring Harbor Laboratory Press.)

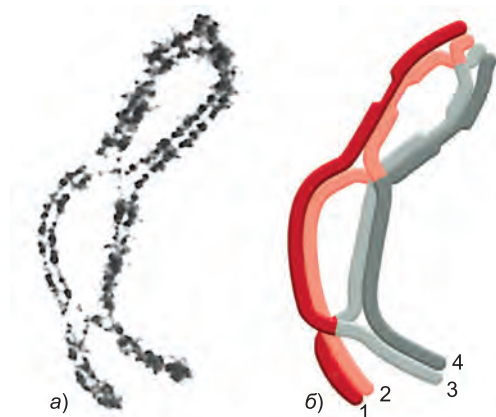


Рис. 21.10. Бивалент с тремя хиазмами. а) Микрофотография бивалента из клетки кузнечика, сделанная с помощью светового микроскопа. б) Схема расположения точек кроссинговера на биваленте (а): хроматида 1 обменивается генетическим материалом с хроматидой 3, а хроматида 2 — с хроматидами 3 и 4. Обратите внимание, что хиазмы и тесная связь сестринских хроматид друг с другом (опосредованная когезиновыми комплексами), не дают распастись биваленту даже после разборки синаптонемного комплекса. Если хиазмы не образуются или же сестринские хроматиды не будут связаны друг с другом, то гомологи потеряют связь друг с другом уже на этой стадии и не смогут правильно разойтись по клеткам в конце первого деления мейоза. (а, с любезного разрешения Bernard John.)

длиться больше нескольких суток, пока не начнется отделение гомологов друг от друга и распад синаптонемного комплекса, то есть стадия *диплотены*. Это сопровождается дальнейшей компактизацией и укорочением хромосом. Лишь на этой стадии, после разборки синаптонемного комплекса, можно наблюдать результаты отдельных событий кроссинговера между несестринскими хроматидами: они имеют вид специальных структур — **хиазм**, которые с этого момента не дают конденсированным гомологам разойтись (рис. 21.10). Теперь гомологи готовы к началу процесса расхождения. Профаза I завершается *диакинезом* — переходом к метафазе I.

У некоторых видов, в том числе у некоторых дрожжей, червей, двукрылых и млекопитающих, удалось определить белки, образующие поперечные филаменты и связывающие боковые элементы гомологов. Они образуют взаимодействующие друг с другом гомодимеры, которые заполняют 100-нанометровый промежуток между боковыми элементами (см. рис. 21.11). У большинства эукариот эти белки принимают активное участие в кроссинговере, поскольку мутантные по этим белкам организмы к кроссинговеру не способны. Основными компонентами боковых элементов являются когезиновые комплексы, образующиеся еще в S-фазе и связывающие друг с другом хроматиды (см. рис. 21.8). Некоторые из когезиновых субъединиц, участвующих в митозе, задействованы и здесь, но есть и специфичные для мейоза субъединицы. Как мы расскажем ниже, кроссинговеры и когезиновые комплексы играют важную роль при расхождении гомологов в первом делении мейоза.

21.2.4. В расхождении гомологов участвуют специфичные для мейоза белки, связанные с кинетохором

Одно из фундаментальных отличий первого деления мейоза от митоза (а также от второго деления мейоза) состоит в том, что во время этого деления разделяются не сестринские хроматиды, а гомологичные хромосомы, которые затем расходятся по дочерним клеткам (см. рис. 21.5). Это различие обеспечивается тремя механизмами (рис. 21.12). Во-первых, *кинетохоры* (белковые комплексы, связанные с центромерами, см. главы 4 и 17) двух сестринских хроматид в составе гомолога прикрепляются к микротрубочкам, отходящим от одного и того же полюса мейотического веретена, поэтому при расхождении в анафазе I они попадают в одну и ту

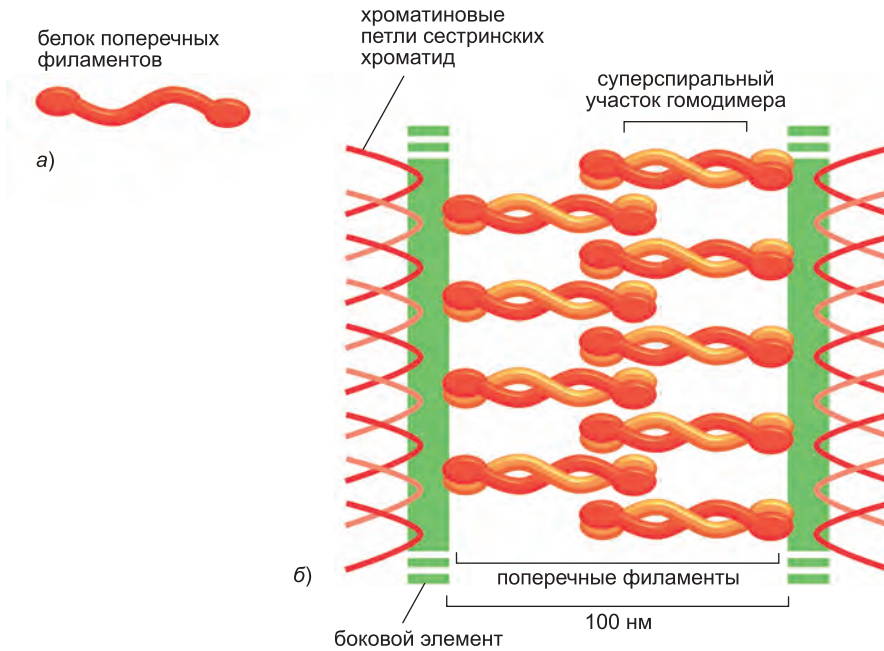


Рис. 21.11. Современная модель строения осевого элемента. Полагают, что поперечные филаменты образуются одним типом белка. *а)* Схема полипептидной цепочки этого белка: глобулярные N- и C-концевые домены соединены сверхспиральным участком. *б)* По современным представлениям, этот белок образует взаимодействующие друг с другом гомодимеры, заполняющие 100-нанометровый промежуток между боковыми элементами. (По S. L. Page and R. S. Hawley, *Science* 301: 785–789, 2003. С разрешения издательства AAAS.)

же дочернюю клетку. В этом проявляется значительное отличие от митоза, при котором кинетохоры двух сестринских хроматид одной хромосомы связываются с микротрубочками, ведущими к разным полюсам веретена деления, что приводит к их расхождению в разные дочерние клетки. Во-вторых, гомологи крепко сцеплены друг с другом и сопротивляются усилиям микротрубочек веретена, тянущих в разные стороны, до тех пор, пока биваленты не выстроятся по экватору веретена и не начнется их расхождение (анафаза I). В этом принимают участие хиазмы между несестринскими хроматидами и белки сцепления сестринских хроматид (см. рис. 21.10). В-третьих, в анафазе I плечи сестринских хроматид разъединяются, при этом разрешаются хиазмы, а гомологи получают возможность разойтись, однако сестринские хроматиды остаются сцепленными друг с другом в области центромер вплоть до анафазы II и в анафазе I не расходятся.

Если с помощью микроманипулятора перенести хромосомы первого деления мейоза на веретено второго деления мейоза, то они продолжают вести себя так же, как и раньше. Это свидетельствует о том, что особое поведение хромосом в первом делении обусловлено самими хромосомами, а не веретеном деления или какими-либо другими цитоплазматическими факторами. За поведение хромосом в мейозе отвечают специальные белки, связанные с ними, а также белки, участвующие в клеточных делениях обоих типов. К примеру, специфичные для мейоза белковые комплексы связываются с двумя кинетохорами на каждом гомологе и обеспечивают надежное связывание сестринских хроматид с микротрубочками, отходящими

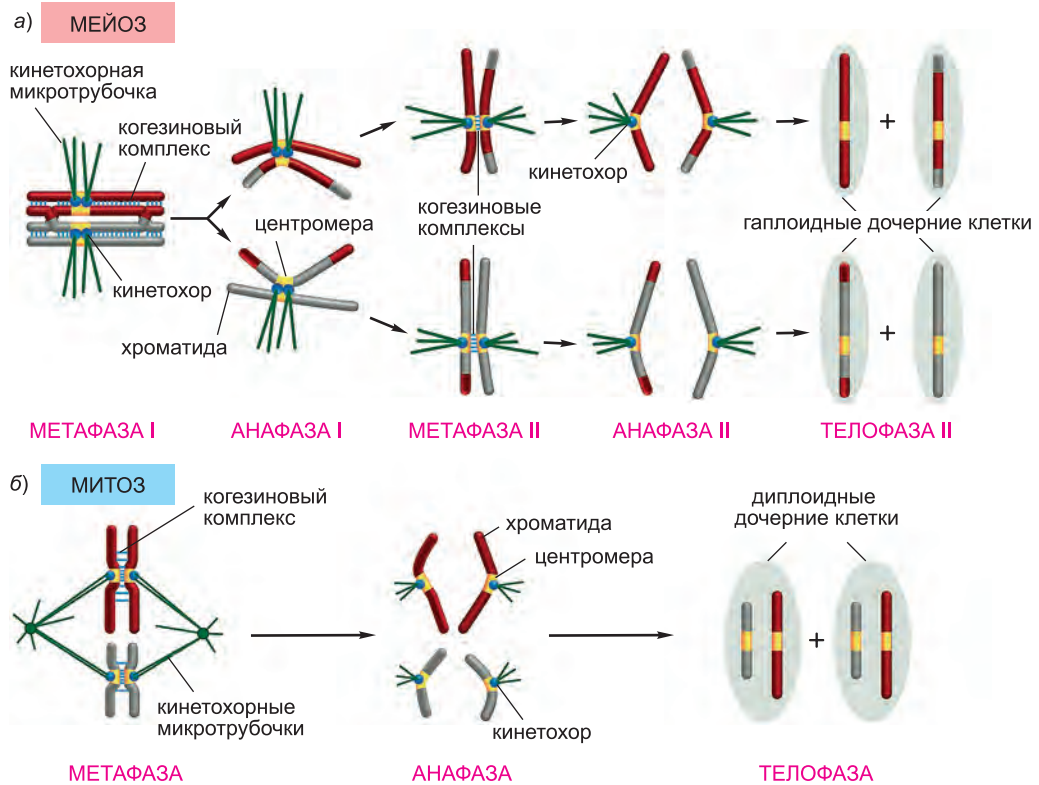


Рис. 21.12. Поведение хромосом в мейозе I, мейозе II и митозе. Хромосомы ведут себя сходным образом в митозе и мейозе II, но их поведение в мейозе I сильно отличается. а) В мейозе I кинетохоры двух сестринских хроматид каждой гомологичной хромосомы расположены в области центромеры рядом друг с другом и соединены с микротрубочками веретена, отходящими от одного и того же точного полюса. В анафазе I протеолиз когезиновых комплексов разделяет плечи сестринских хроматид, «разрешает» кроссинговеры и позволяет удвоившимся хромосомам разойтись. При этом остаточные когезиновые комплексы скрепляют хроматиды в области центромер. В анафазе II расщепляются и эти остаточные комплексы, в результате чего хроматиды расходятся. б) В митозе, напротив, кинетохоры сестринских хроматид прикрепляются к микротрубочкам, идущим от разных полюсов клетки, поэтому в начале анафазы хроматиды расходятся и в итоге попадают в разные дочерние клетки (см. главу 17).

от одного и того же полюса веретена. Другие связанные с кинетохорами белки, под названием *шугошины*, не дают сестринским хроматидам разойтись в анафазе I, когда протеолитический фермент *сепараза* (см. главу 17) расщепляет когезиновые комплексы между плечами хроматид. Возможно, шугошины защищают когезиновые комплексы в области центромер, привлекая специальные фосфатазы, дефосфорилирующие когезиновые комплексы, в результате чего те становятся недоступными для протеолиза. Таким образом, плечи хроматид в анафазе I разъединяются, а их центромеры — нет. Сестринские хроматиды разделяются лишь тогда, когда сепараза расщепляет остаточные когезиновые комплексы в области центромер; это происходит в анафазе II (см. рис. 21.12, а), в которой шугошины уже не участвуют.

В отличие от первого деления мейоза, второе деление мейоза происходит быстро и сильно напоминает митотическое деление, хотя ему и не предшествует

удвоение ДНК. Профаза II длится недолго: при формировании нового веретена деления ядерная оболочка разрушается, после чего, быстро сменяя друг друга, следуют метафаза II, анафаза II и телофаза II. Когда вокруг каждого из четырех образовавшихся гаплоидных ядер возникает оболочка, происходит цитокинез и мейоз завершается.

21.2.5. Часто мейоз происходит с нарушениями

Сортировка хромосом в течение мейоза — выдающееся достижение внутриклеточной бухгалтерии. Ведь, к примеру, у человека каждый раз при мейозе нужно не упустить из виду ни одну из 92 хроматид (46 удвоенных хромосом) и тщательно проследить, чтобы каждому из четырех потомков мейотической делящейся клетки достался ровно один гаплоидный набор хромосом. Неудивительно, что в таком сложном процессе иногда случаются ошибки. Ошибки особенно характерны для мейоза у женщин, поскольку после завершения диплоциты он на несколько лет приостанавливается: первое деление мейоза завершается лишь при *овуляции*, а второе — лишь после оплодотворения. Ошибки расхождения хромосом при созревании яйцеклеток чаще всего являются причиной самопроизвольных аборт (выкидышей) и умственной отсталости.

В результате **нерасхождения** гомологичных хромосом, когда гомологи не могут отделиться друг от друга, некоторые из гаплоидных гамет будут содержать более одной копии хромосомы, а другие — вообще не будут содержать этой хромосомы. (Клетки с аномальным количеством хромосом называются *анеуплоидными*, а с нормальным количеством хромосом — *эуплоидными*). При оплодотворении анеуплоидные гаметы дают начало аномальному эмбриону; чаще всего такие эмбрионы погибают, но не всегда. Например, *синдром Дауна*, который чаще всего является единственной причиной умственной отсталости, обусловлен наличием дополнительной копии 21 хромосомы. Такая аномалия обычно возникает из-за нерасхождения хромосом в первом делении мейоза в яичнике женщины. Вероятность ошибки расхождения в первом делении мейоза резко увеличивается с возрастом женщины.

Несмотря на возможные ошибки, мейоз используется, так или иначе, практически всеми эукариотами: он позволяет перетасовать генетическую информацию, прежде чем передать ее следующему поколению. Как мы сейчас обсудим, главная роль в этой перетасовке принадлежит кроссинговеру.

21.2.6. Кроссинговер увеличивает число новых сочетаний генов

За исключением однояйцевых близнецов, развивающихся из одной зиготы, любые два потомка одних и тех же родителей будут генетически различаться. Как мы уже знаем, причина этого в том, что задолго до оплодотворения, в гаметогенезе, еще при первом делении мейоза происходят два случайных события: распределение материнских и отцовских гомологов и кроссинговер. Ввиду случайности распределения материнских и отцовских гомологичных хромосом (**рис. 21.13, а**) клетки любой особи могут, в принципе, образовать 2^n генетически различающихся гамет, где n — гаплоидное число хромосом. Например, у человека каждый индивидуум способен образовать по меньшей мере $2^{23} = 8,4 \times 10^6$ генетически различных гамет. Однако реальное число вариантов значительно увеличивается за счет **кроссинговера** (иногда называемого перекрестом хромосом), который является следствием гомологичной рекомбинации (см. главу 5) — процесса обмена сегментами ДНК между гомологичными хромосомами. При мейозе в результате такого обмена между

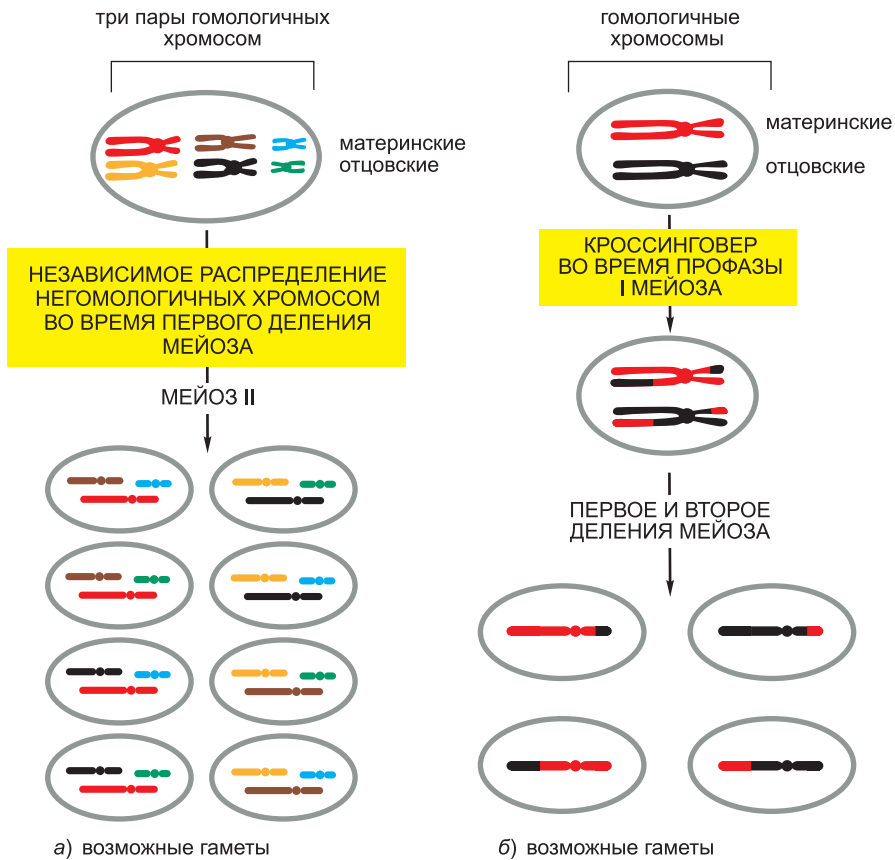


Рис. 21.13. Два основных механизма перераспределения генетического материала во время мейоза. а) У организма с n хромосомами в результате независимого расхождения гомологичных хромосом в первом делении мейоза может получиться 2^n различных гаплоидных гамет. В данном случае $n = 3$ и может быть 8 различных типов гамет. б) В профазе I мейоза происходит кроссинговер: гомологичные хромосомы обмениваются участками, что ведет к перераспределению генов. В последовательностях ДНК двух гомологов всегда имеется большое число незначительных различий, поэтому оба механизма увеличивают наследственную изменчивость организмов, размножающихся половым путем.

несестринскими хроматидами генетическая информация, записанная в хромосомах, перемешивается (рис. 21.13, б). В среднем между двумя спаренными гомологами происходит 2–3 кроссинговера (рис. 21.14).

Молекулярные механизмы кроссинговера описаны в главе 5 (см. рис. 5.64). Вкратце, консервативный специфичный для мейоза белок *Spo11* делает двухцепочечные разрывы в ДНК материнской или отцовской хроматиды, тем самым запуская кроссинговер. Далее в сайте двухцепочного разрыва собирается очень большой мультиферментный *рекомбинационный комплекс*, содержащий ферменты, репарирующие двухцепочечные разрывы ДНК. Этот комплекс катализирует гомологичную рекомбинацию. В большинстве случаев это не приводит к кроссинговеру, но иногда кроссинговер происходит, и тогда две несестринские хроматиды взаимно обмениваются сегментами ДНК. Как мы уже знаем, после распада синаптонемного

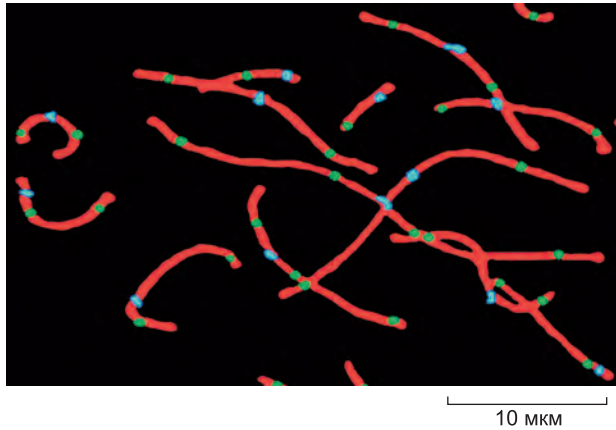


Рис. 21.14. Кроссинговер между гомологичными хромосомами в семенниках человека. На этих микрофотографиях, полученных методом иммунофлуоресценции, антитела использовали для окраски синаптонемных комплексов (красный цвет), центромер (синий) и сайтов кроссинговера (зеленый). Обратите внимание, что в каждом биваленте имеется хотя бы один сайт кроссинговера и ни в каком — больше трех. (Из A. Lynn et al., *Science* 296: 2222–2225, 2002, с изменениями. С разрешения издательства AAAS.)

комплекса каждый кроссинговер можно наблюдать в микроскоп как хиазму (см. рис. 21.10, *а*). На рис. 21.10, *б* показано, что каждая из сестринских хроматид в одном гомологе может образовать одиночный или множественный перекрест с любой из хроматид соседнего гомолога.

21.2.7. Кроссинговер строго регулируется

Кроссинговер выполняет в мейозе две функции: во-первых, он не дает гомологам разъединиться, обеспечивая их правильное расхождение по дочерним клеткам в конце первого деления, во-вторых, участвует в генетической модификации вырабатываемых гамет. Поэтому, как следует ожидать, кроссинговер строго регулируется: контролируется число и расположение двухцепочечных разрывов в каждой хромосоме, а также вероятность того, что в области данного разрыва произойдет кроссинговер. Хотя двухцепочечные разрывы в первом делении мейоза могут появиться практически в любой точке хромосомы (см. рис. 21.14), они распределены не равномерно, а концентрируются в области «горячих точек», где доступен хроматин, и редко встречаются в «холодных участках», например, в гетерохроматиновых участках центромер и теломер.

На число и расположение кроссинговеров оказывают влияние по меньшей мере два фактора; ни один из них еще не изучен достаточно подробно. Оба механизма действуют на этапе сборки синаптонемного комплекса. Один из них обеспечивает образование как минимум одного кроссинговера в каждой паре гомологов, что необходимо для нормального расхождения хромосом в первом делении мейоза. В соответствии другим механизмом, называемым *хиазменной (хромосомной) интерференцией*, наличие одного кроссинговера в биваленте хромосом подавляет образование последующих, возможно, способствуя локальному уменьшению концентрации белков, необходимых для формирования устойчивого кроссинговера на месте двухцепочечного разрыва ДНК.

21.2.8. У самцов и самок млекопитающих мейоз регулируется по-разному

Фундаментальные принципы мейоза одинаковы у всех эукариот, размножающихся половым путем. Например, у всех этих организмов большую часть времени, отведенного на мейоз, занимает профазы I, хотя отдельные временные характеристики могут и различаться (рис. 21.15). Однако, помимо различий в регуляции мейоза у разных видов, мейоз по-разному регулируется у представителей противоположных полов одного и того же вида. Особенно четко различия между полами в этом отношении выражены у млекопитающих.

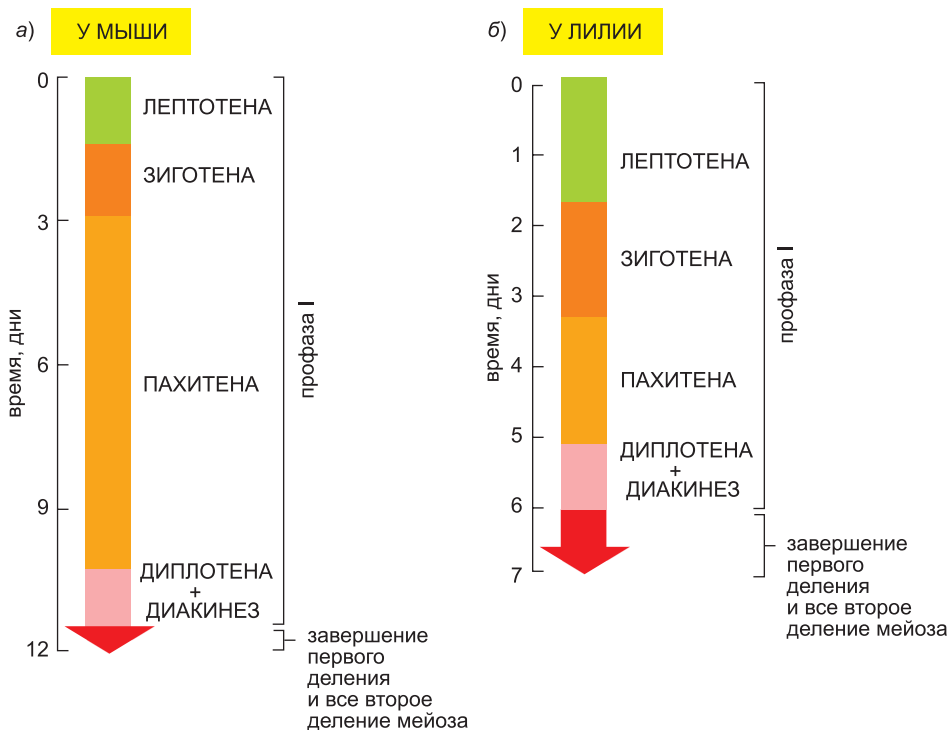


Рис. 21.15. Сравнение длительности различных стадий мейоза. Показаны примерные временные интервалы для самца млекопитающего (мыши, рис. а) и растения (лилии, рис. б). Эти интервалы различны для женских и мужских гамет (яиц и спермиев) одного и того же вида и для одинаковых гамет разных видов. Например, мейоз у мужчины длится 24 дня, а у самца мыши 12 дней. У женщин длительность мейоза может составлять до 40 лет, поскольку после стадии диплотены он приостанавливается. Однако во всех случаях профазы первого деления мейоза намного продолжительнее, чем все остальные стадии, вместе взятые.

У самок млекопитающих клетки-предшественники яйцеклеток (ооциты) вступают в мейоз еще в яичнике плода, однако первое деление мейоза приостанавливается по завершении диплотены (после распада синаптонемного комплекса). Первое деление мейоза заканчивается лишь после наступления половой зрелости, при выходе ооцита из яичника, то есть при *овуляции*. Более того, высвобожденный ооцит завершает второе деление мейоза только в случае оплодотворения. Таким образом, у самок имеются специальные механизмы, останавливающие мейоз и запускающие

его вновь. У человека ооциты могут находиться на стадии первого деления более 40 лет; возможно, отчасти поэтому вероятность нерасхождения хромосом значительно увеличивается с возрастом женщины. У самцов же деление предшественников сперматозоидов (*сперматоцитов*) мейозом начинается лишь с наступлением половой зрелости и протекает непрерывно, без пауз. У человека полное мейотическое деление сперматоцита занимает примерно 24 дня.

Мейоз у самок и самцов, кроме того, сильно различается по количеству ошибок; особенно это заметно у человека. Примерно 20% яйцеклеток человека анеуплоидны, в то время как анеуплоидными являются всего 3–4% сперматозоидов. Это является основной причиной того, что 25% всех зародышей человека анеуплоидны; как правило, это результат нерасхождения хромосом в ооцитах на стадии первого деления мейоза. Чтобы оплодотворить одну-единственную яйцеклетку, вышедшую при овуляции в половые пути, с противоположного конца в половые пути самки проникают миллионы сперматозоидов. Учитывая такое несоответствие, можно ожидать, что при созревании яйцеклеток будет действовать гораздо более строгий контроль качества, чем при созревании сперматозоидов, однако дело обстоит с точностью до наоборот. Если у самца при мейозе происходит ошибка, то активируется механизм регуляции клеточного цикла (см. главу 17), останавливающий мейоз и запускающий программу апоптоза. Судя по всему, такой механизм у самок не работает: если расхождение происходит с нарушениями, клетки все равно продолжают мейотически делиться, образуя анеуплоидные клетки. С другой стороны, считается, что мужские клетки зародышевой линии являются источником другой генетической ошибки. Поскольку при созревании спермиев происходит много циклов митоза, а каждый акт репликации ДНК чреват ошибками, отцы в среднем вносят больше мутаций, чем матери.

В созревании гамет участвует не только мейоз, но и другие процессы; в случае яйцеклеток и спермиев они тоже различаются. Как мы увидим, к концу митоза яйцеклетка млекопитающего полностью созревает, в то время как при формировании спермия конец мейоза означает лишь начало дифференцировки. Однако прежде чем обсуждать эти гаметы, рассмотрим, откуда берутся их предшественники — клетки, которые сначала обособляются как клетки зародышевого пути, а затем развиваются в зависимости от пола животного в сперматозоид или яйцеклетку.

Заключение

Гаплоидные гаметы (яйцеклетки, сперматозоиды, пыльцевые зерна и споры) возникают в процессе мейоза, включающего в себя один цикл репликации ДНК и два клеточных деления, в результате которых из одной диплоидной клетки образуются четыре гаплоидные клетки. Длительная профазы I мейоза может занимать до 90% времени всего мейотического деления. В начале профазы I хромосомы дублируются, а сестринские хроматиды прочно склеиваются друг с другом. Затем гомологичные хромосомы (гомологи) конъюгируют и по мере прохождения профазы I соединяются все плотнее. В спаренных гомологах (бивалентах) происходит генетическая рекомбинация, в результате которой формируются кроссинговеры, которые впоследствии можно наблюдать как хиазмы, не дающие гомологам разъединиться в метафазе I. Кроссинговер и независимое расхождение материнских и отцовских хромосом в первом делении мейоза приводят к формированию гамет, генетически отличных друг от друга и от клеток обоих родителей. Специфичные для мейоза связанные с кинетохорами белки

обеспечивают прикрепление обеих сестринских хроматид в гомологе к одному и тому же полюсу мейотического веретена. Другие связанные с кинетохорами белки обеспечивают соединение сестринских хроматид в области центромер в течение анафазы I, так что в первом делении мейоза по разным клеткам расходятся не сестринские хроматиды, а гомологичные хромосомы. По завершении длительного первого деления мейоза происходит быстрое второе деление, которому не предшествует репликация ДНК. Второе деление мейоза сходно с митозом, поскольку в этом случае в анафазе расходятся сестринские хроматиды.

21.3. Первичные половые клетки и определение пола у млекопитающих

Разные организмы избирают различные стратегии полового размножения; в последующих параграфах мы будем иметь дело с теми стратегиями, которые используют млекопитающие.

У всех эмбрионов позвоночных имеются клетки, которые на ранних стадиях определяются как предшественники гамет. Эти диплоидные **первичные половые клетки (ППК, primordial germ cells)** мигрируют в развивающиеся половые железы, которые у самок впоследствии преобразуются в яичники, а у самцов — в семенники. После нескольких митотических делений ППК претерпевают мейоз и дифференцируются в зрелые гаплоидные гаметы — яйцеклетки или сперматозоиды. Слияние яйцеклетки и спермия при оплодотворении инициирует эмбриогенез. Появление ППК в новом эмбрионе запускает следующий круг цикла (см. рис. 21.3, а).

В этом разделе мы рассмотрим, как возникают ППК млекопитающих, как определяется пол животного и как определение пола связано с образованием яйцеклеток или сперматозоидов.

21.3.1. Сигналы соседних клеток определяют в эмбрионах млекопитающих будущие первичные половые клетки

У многих животных, включая многих позвоночных, неоплодотворенная яйцеклетка содержит особые молекулы, сосредоточенные в некотором участке цитоплазмы. Эти молекулы определяют, какие клетки продолжают зародышевую линию. После оплодотворения и нескольких делений клетки раннего зародыша, которые унаследовали эти *детерминанты клеток зародышевой линии*, становятся ППК (рис. 21.16). Хотя молекулярная природа и функция этих детерминантов по большей части не ясны, известно, что среди них обязательно содержатся белки семейства *Vasa*. Белки *Vasa* по структуре похожи на АТР-зависимые РНК-хеликазы, однако их точная роль в определении ППК остается загадкой.

В отличие от этого, у других животных, включая млекопитающих, цитоплазма яйцеклетки не содержит никаких локализованных детерминантов. Вместо этого, действует другой механизм определения ППК, основанный на сигналах, посылаемых соседними клетками. У млекопитающих все клетки, получившиеся в результате первых нескольких делений, являются *тотипотентными*, то есть они могут дать начало клеткам любого типа, в том числе клеткам зародышевой линии и клеткам внеэмбриональных тканей, например плаценты. Лишь на более поздней стадии небольшая группа клеток получит соответствующий сигнал и превратится в ППК. Например, у мышей по прошествии примерно шести дней после оплодотворения

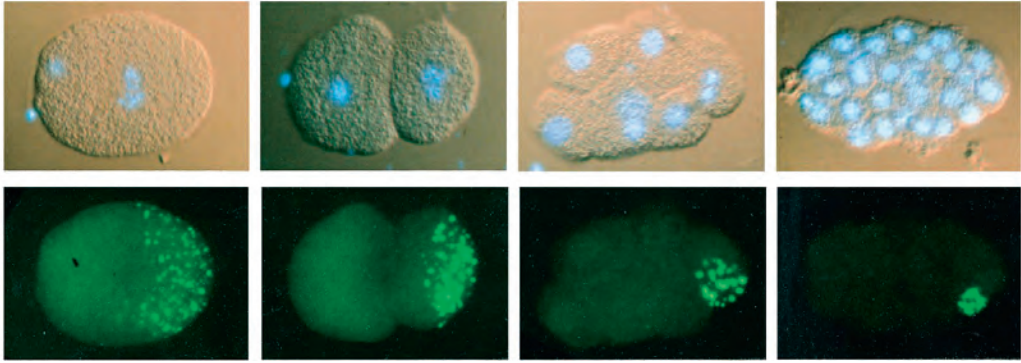


Рис. 21.16. Детерминанты клеток зародышевой линии у нематоды *C. elegans*. На микрофотографиях сверху представлен ряд клеточных делений; ядра клеток окрашены голубым. Внизу — те же клетки, окрашенные (в зеленый) антителами к небольшим гранулам (так называемым Р-гранулам), служащим детерминантами клеток зародышевой линии. Р-гранулы состоят из РНК и белка; они равномерно распределены по цитоплазме неоплодотворенной яйцеклетки (не показано). После оплодотворения гранулы скапливаются на одном из полюсов зиготы (вверху и внизу слева). При каждом делении они переходят в одну из дочерних клеток. На фотографиях сверху и внизу справа гранулы сосредоточены в клетке — она и будет предшественником клеток зародышевой линии. (С любезного разрешения Susan Strome.)

клетки окружающей эмбрион ткани выделяют сигнальные молекулы (в том числе белок морфогенеза костей 4, BMP4) и индуцируют превращение около 10 клеток в предшественников ППК. Эти клетки делятся и превращаются в зрелые ППК, отключая экспрессию некоторых генов, свойственных соматическим клеткам, и запуская экспрессию генов, определяющих характерные свойства клеток зародышевой линии.

Несмотря на разные механизмы определения ППК у разных животных, некоторые из механизмов регуляции деления и развития клеток одинаковы у всех животных от червей до человека. Например, у всех исследованных животных при развитии ППК их соматические свойства устраняются посредством подавления экспрессии генов, а также ингибирования трансляции конкретных мРНК при помощи РНК-связывающими белков *Nanos*.

21.3.2. Первичные половые клетки мигрируют в развивающиеся половые железы

После созревания ППК млекопитающих пролиферируют и мигрируют в места своего назначения — развивающиеся половые железы (рис. 21.17). В этом им помогают различные внеклеточные сигнальные белки, вырабатываемые соседними соматическими клетками, способствуя их выживанию и делению и подсказывая направление миграции. Среди секретируемых сигнальных белков, способствующих положительному хемотаксису, выделяются *хемотоксины*, связывающиеся с рецепторами, сопряженными с G-белками (G-protein-coupled receptors, GPCR) и направляющие миграцию различных клеток, в том числе ППК и лейкоцитов (см. главу 23).

После того как ППК достигнут гонады, которая на этой стадии называется уrogenитальный гребень, они проходят ряд последовательных митотических делений, вступая на путь дифференцировки в яйцеклетку или сперматозоид.

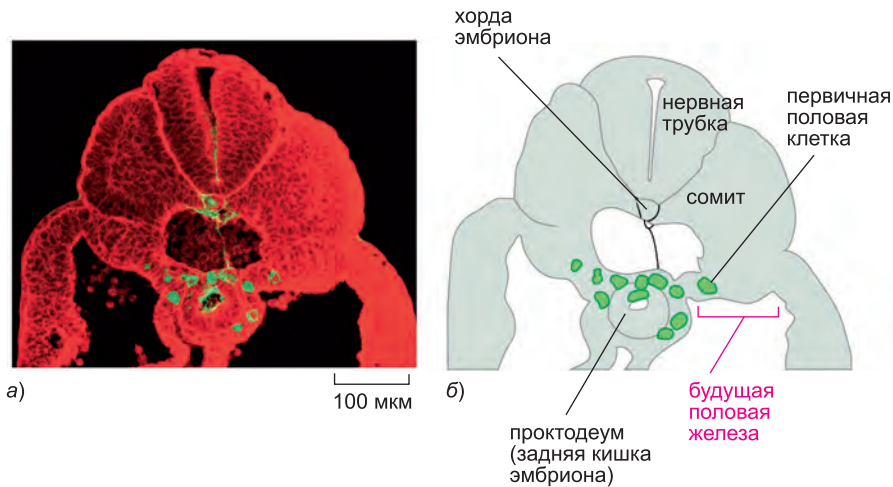


Рис. 21.17. Миграция первичных половых клеток (ППК) млекопитающих. а) Микрофотография среза эмбриона мыши на ранних стадиях развития, сделанная методом иммунофлуоресценции. Мигрирующие ППК окрашены с помощью моноклональных антител (зеленый цвет), специфически связывающихся с этими клетками на данном этапе эмбриогенеза. Остальные клетки окрашены с помощью лектина в красный цвет; лектин связывается с сиаловой кислотой, присутствующей на поверхности всех клеток. б) Схема расположения тканей на микрофотографии (а). (а, с любезного разрешения Robert Anderson и Chris Wylie.)

Однако в самом начале этой серии делений их путь дифференцировки еще не определен. Выделенные из эмбриона и культивируемые в присутствии соответствующих внеклеточных сигнальных белков ППК могут дать начало клеткам любого типа, кроме внеэмбриональных клеток, формирующих, например, плаценту. Поэтому они называются *плюрипотентными*, а не тотипотентными. В этом отношении *эмбриональные клетки зародышевой линии* аналогичны *эмбриональным стволовым клеткам* (см. главу 23). И те, и другие являются возможными источниками человеческих клеток различных типов, которые можно будет использовать как для тестирования лекарств, так и для лечения болезней, в том числе инфарктов, инсультов и различных нейродегенеративных заболеваний, при которых погибают клетки конкретного типа.

Что же определяет направление дифференцировки ППК в яйцеклетки или сперматозоиды? Примечательно, что это определяется не набором половых хромосом, как можно было ожидать, а тем, в какие именно гонады — яичники или семенники — начнет превращаться уrogenитальный гребень. Последнее же определяется набором половых хромосом соматических клеток самого гребня. Хотя на исход этого процесса влияют многие гены, один из генов Y-хромосомы играет в этом особенно заметную роль.

21.3.3. Ген *Sry* заставляет развивающиеся половые железы млекопитающих превращаться в семенники

Аристотель считал, что соотношение полов в потомстве определяется температурой тела самца в момент соития: чем выше температура, тем больше вероятность появления самцов в потомстве. Имей он в виду ящериц или аллигаторов, философ был бы ближе к истине, поскольку у многих яйцекладущих рептилий пол потомства определяется температурой инкубации яиц; у ящериц и аллигаторов самцы рожда-

ются в тепле, а самки — в прохладе. Теперь, однако, мы знаем, что пол млекопитающего определяют половые хромосомы, а не температура тела родителей.

У самок млекопитающих в каждой соматической клетке содержится две X-хромосомы, а у самцов — одна X- и одна Y-хромосома. Присутствие или отсутствие Y-хромосомы, наименьшей из человеческих хромосом¹ (рис. 21.18), определяет пол особи. Особи, несущие Y-хромосому, независимо от числа X-хромосом, становятся самцами, а особи, в клетках которых нет Y-хромосомы, становятся самками, даже если у них X-хромосома всего одна. Пол зиготы определяет оплодотворивший ее сперматозоид: яйцеклетка содержит единственную X-хромосому, сперматозоид же может содержать как X-, так и Y-хромосому.

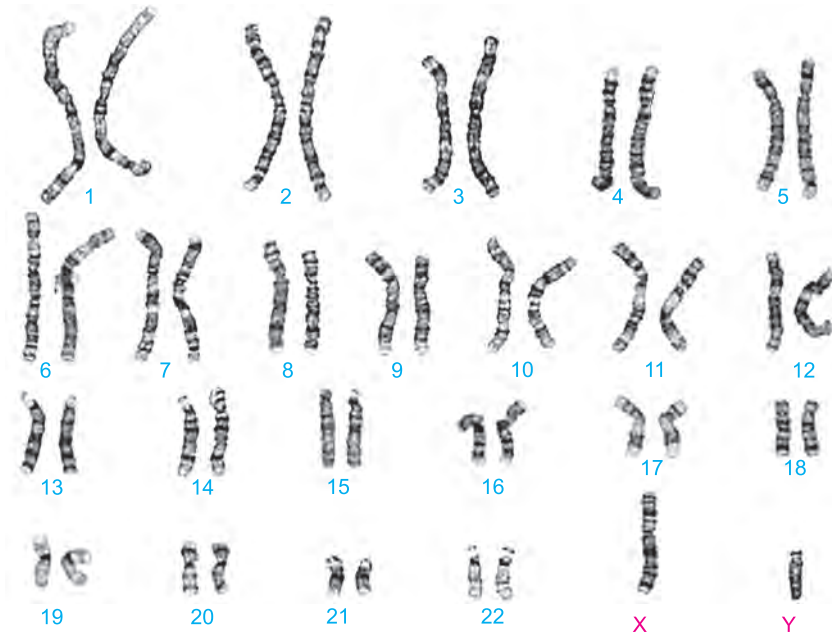


Рис. 21.18. Хромосомы нормального мужчины. Применяли окраску по Гимза. См. также рис. 4.10 и 4.11. Обратите внимание, что половые хромосомы различаются по размеру. X-хромосома содержит более 1000 генов, а Y-хромосома — всего около 80. (С любезного разрешения Julie Robertson of the Wisconsin State Laboratory of Hygiene.)

Роль Y-хромосомы при определении пола особи заключается в том, что она заставляет соматические клетки уrogenитального гребня формировать семенники, а не яичники. Эмбрионы млекопитающих по умолчанию развиваются как самки, если нет сигнала к формированию семенников, приводящему к развитию самца. Если уrogenитальные гребни удалить до того момента, как они начнут преобразовываться в семенники или яичники, млекопитающее становится самкой, вне зависимости от набора половых хромосом. Это не значит, что для развития женских органов не нужны никаких сигналов: например, для развития нормальных яичников необходим сигнальный белок Wnt4.

¹ На самом деле наименьшей по размеру хромосомой человека является 21-ая аутосома. — *Прим. ред.*

Основной ген Y-хромосомы, заставляющий уrogenитальный гребень развиваться в семенники, а не в яичники, носит название **Sry**, от английского **Sex-determining Region of Y**, то есть «определяющий пол участок Y-хромосомы». Примечательно, что если этот ген ввести в геном мышшиной зиготы с генотипом XX, то из этой зиготы развивается самец, хотя в его генотипе отсутствуют все другие гены Y-хромосомы. Однако такая мышшь с *переопределенным полом* не вырабатывает сперматозоидов, поскольку у нее отсутствуют другие гены Y-хромосомы, необходимые для их формирования. Аналогично, люди с набором половых хромосом XY, у которых имеется мутация в гене *Sry*, являются женщинами, хотя по генотипу они мужчины.

Ген *Sry* экспрессируется в некоторых клетках развивающейся половой железы, что заставляет эти клетки дифференцироваться в **клетки Сертоли**. Это основной тип вспомогательных клеток семенников (рис. 21.29). Именно клетки Сертоли определяют развитие самца, оказывая следующее влияние на другие клетки эмбриона:

1. Побуждают вновь прибывающие ППК развиваться в предшественники сперматозоидов, не давая им претерпеть мейоз, который запускает развитие яйцеклетки (см. далее);
2. Выделяют антимюллеров гормон, поступающий в кровь и заставляющий деградировать мюллеров проток, подавляя таким образом развитие женских половых путей (в отсутствие этого гормона из мюллерова протока развиваются фаллопиевы трубы, матка и верхняя часть влагалища);
3. Стимулируют миграцию эндотелиальных и гладкомышечных клеток смежных мезенхимальных клеток в развивающуюся гонаду. Эти клетки формируют необходимые элементы для сперматогенеза, который начинается с наступлением половой зрелости;
4. Способствуют превращению других клеток гонады в *клетки Лейдига*, выделяющие половой гормон *тестостерон* в кровь. Тестостерон отвечает за формирование всех мужских вторичных половых признаков, в том числе таких структур мужских половых путей, как предстательная железа и семенные пузырьки, которые развиваются из другого протока, называемого вольфовым протоком. Эти протоки у самок деградируют, поскольку для их выживания и развития необходим тестостерон. Секреция тестостерона участвует также в маскулинизации развивающегося мозга, способствуя становлению половой идентичности, половой ориентации и, соответственно, полового поведения: например, самки крысы, на которых вскоре после рождения действовали тестостероном, впоследствии ведут себя подобно самцам.

Ген *Sry* кодирует белок-регулятор экспрессии генов *Sry*, связывающийся с ДНК и влияющий на транскрипцию других генов, участвующих в развитии клеток Сертоли. Один из основных белков в этом каскаде, родственник *Sry*, носит название *Sox9* и тоже является регулятором экспрессии. Ген *Sox9* располагается не на Y-хромосоме, однако экспрессируется у самцов всех позвоночных. В этом его отличие от *Sry*, который имеется лишь у млекопитающих. Если искусственно стимулировать экспрессию гена *Sox9* в развивающейся гонаде зародыша мышши с набором XX, то эмбрион развивается в самца, несмотря на отсутствие гена *Sry*; это свидетельствует о том, что функция *Sry* заключается в активации экспрессии *Sox9*. Белок *Sox9* напрямую активирует транскрипцию некоторых генов, определяющих развитие клеток Сертоли, включая ген, кодирующий антимюллеров гормон.

В отсутствие *Sry* или *Sox9* уrogenитальный гребень зародыша с набором хромосом XY развивается в яичник, а не в семенник. При этом вспомогательными являются *фолликулярные клетки*, а не клетки Сертоли. Другие соматические клетки превращаются в клетки теки (а не клетки Лейдига), которые с наступлением половой зрелости приступают к выработке женского полового гормона эстрогена. ППК начинают дифференцироваться в яйцеклетки, а не сперматозоиды (рис. 21.19), и животное становится самкой.

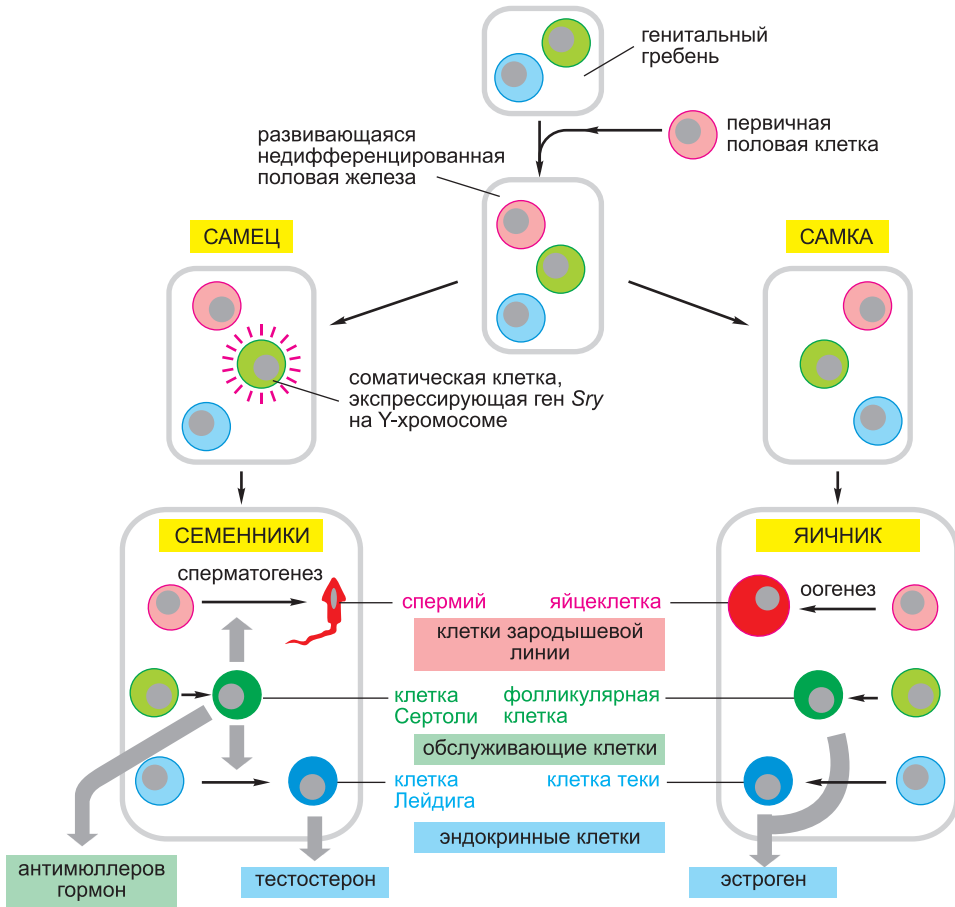


Рис. 21.19. Влияние фактора *Sry* на развитие гонад. Клетки зародышевой линии показаны оттенками красного, а соматические — оттенками зеленого или синего. Переход от светлого оттенка к темному символизирует переход клетки в дифференцированное состояние. Ген *Sry* активен в некоторых соматических клетках развивающейся гонады и заставляет их дифференцироваться не в фолликулярные клетки, а в клетки Сертоли. Впоследствии, при наступлении половой зрелости, клетки Сертоли не дают клеткам половой линии развиваться по пути оогенеза и стимулируют сперматогенез. Кроме того, они секретируют антимюллеровский гормон, который вызывает дегенерацию мюллерова протока, и способствуют тому, что некоторые другие соматические клетки дифференцируются в клетки Лейдига, вырабатывающие тестостерон (см. рис. 21.29). В отсутствие *Sry* клетки половой линии вступают в оогенез, а соматические клетки превращаются либо в фолликулярные клетки, способствующие развитию яйцеклетки, либо в клетки теки, секретирующие прогестерон. Фолликулярные клетки перерабатывают прогестерон в эстроген. В то время как семенники начинают вырабатывать тестостерон еще до рождения, яичники не секретируют эстроген вплоть до наступления половой зрелости.

Как же клетки Сертоли заставляют достигшие развивающейся мужской гонады ППК становиться предшественниками сперматозоидов, а не яйцеклеток? В этом механизме участвуют сигнальные молекулы *ретиновой кислоты* (см. рис. 15.13), которые у животных обоих полов вырабатываются во временных трубчатых структурах, называемых мезонефросом. Последний расположен рядом с развивающейся гонадой. В яичнике эмбриона ретиновая кислота заставляет пролиферирующие клетки половой линии вступить в мейоз и пойти по пути формирования яйцеклетки. Деление приостанавливается после завершения стадии диплотены в профазе I и не возобновляется вплоть до овуляции, начинающейся по достижении половой зрелости. В семенниках же, напротив, клетки Сертоли выделяют фермент, разрушающий ретиновую кислоту, предотвращая вступление в мейоз и развитие яйцеклетки. Много позже, в период половой зрелости, клетки половой линии в семенниках начинают превращаться в сперматозоиды.

21.3.4. Многие характеристики полового размножения сильно изменяются от одного вида животного к другому

Мейоз встречается у всех эукариот, размножающихся половым путем; другие процессы, связанные с половым размножением, сильно отличаются у разных видов животных. Мы видели, что пол животного зависит как от набора половых хромосом, так и от обстоятельств, сопутствующих развитию особи. Однако изменяются и сами генетические механизмы. Например, у *C. elegans* и дрозофилы пол определяется соотношением X-хромосом к ауто索мам, а не наличием или отсутствием Y-хромосом, как у млекопитающих. У *C. elegans* в определении пола участвуют в основном механизмы регуляции транскрипции и трансляции, а у дрозофилы, как описано в главе 7, эта задача ложится на регуляцию сплайсинга РНК. Более того, у дрозофилы специфические половые признаки каждой клетки скорее запрограммированы в ее хромосомах, а не диктуются гормонами. Остается загадкой, почему некоторые характеристики полового размножения сохранились в эволюции в неизменном виде, а по другим наблюдают столь фундаментальные различия.

Заключение

Несколько клеток эмбриона на ранней стадии развития под влиянием сигнала от соседних клеток обособляются как клетки половой линии. Эти клетки становятся первичными половыми клетками (ППК), пролиферируют и мигрируют в развивающиеся гонады. Здесь эти клетки должны вступить на путь дифференцировки в яйцеклетки, если незрелая гонада будет яичником, или в сперматозоиды, если она станет впоследствии семенником. Первичная гонада развивается в семенник, если ее соматические клетки содержат Y-хромосому; иначе она становится яичником. В развитии семенников большую роль играет ген Sry, находящийся у млекопитающих на хромосоме Y. Этот ген экспрессируется некоторыми соматическими клетками развивающейся гонады и заставляет их дифференцироваться в клетки Сертоли, которые затем вырабатывают сигнальные молекулы, способствующие появлению мужских половых признаков и подавляющие развитие женских признаков. Эмбрионы млекопитающих по умолчанию развиваются в самок, если клетки Сертоли не направляют их развитие по пути формирования самца.

21.4. Яйцеклетки

По крайней мере в одном отношении яйцеклетки являются самыми удивительными из всех животных клеток: будучи активированы, они могут дать начало целому новому организму, причем иногда для этого достаточно нескольких дней или недель. У высших животных это исключительная привилегия яйцеклеток. Активация обычно является следствием слияния яйцеклетки со сперматозоидом при *оплодотворении*, хотя во многих случаях яйцеклетку можно активировать неспецифическими химическими или физическими воздействиями. В самом деле, некоторые организмы, в том числе различные ящерицы, в норме развиваются из неоплодотворенного активированного яйца, то есть **партеногенетически**. Лишь млекопитающие не способны к партеногенезу; ввиду *геномного импринтинга* (см. главу 7) им необходим как материнский, так и отцовский генетический материал.

Во взрослом организме из яйцеклетки может образоваться клетка любого типа. Тем не менее ее отнюдь нельзя считать недифференцированной клеткой. Она в высшей степени специализирована для выполнения одной-единственной функции — построения новой особи. Более того, цитоплазма яйцеклетки вполне может перепрофилировать ядро соматической клетки на воспроизведение новой особи; молекулярные основы этого явления еще не ясны. Именно таким образом создали овцу Долли. С помощью стеклянной пипетки из неоплодотворенной яйцеклетки удалили ядро, а на его место поместили ядро соматической клетки. Для активации яйцеклетки использовали электрический импульс, а затем полученный таким образом эмбрион имплантировали в матку суррогатной матери. Геном рожденной овцы совпадал с геномом донора ядра, поэтому овца была клоном овцы-донора.

Тот же самый подход, носящий название *репродуктивного клонирования*, используется для создания клонов различных млекопитающих: мышей, крыс, кошек, собак, коз, свиней, коров и лошадей (см. рис. 21.38). Во всех этих случаях клонирование малоэффективно: клоны, как правило, умирают еще до рождения, а взрослого состояния достигает всего 5%. Причиной этому, вероятно, служит то, что трансплантированное соматическое ядро не может полностью сменить свою генетическую программу и характер экспрессии многих генов несовместим с развитием зародыша.

Прежде чем обсуждать вопрос о том, как протекает развитие яйцеклетки до того момента, когда она становится готова к оплодотворению, рассмотрим вкратце некоторые из ее уникальных особенностей.

21.4.1. Яйцеклетки представляют собой высокоспециализированные клетки, способные к независимому развитию

У многих животных яйцеклетки имеют громадные размеры. В них запасено все, что необходимо для начальной стадии развития эмбриона вплоть до того момента, когда новая особь сможет самостоятельно питаться. До этого яйцеклетка делится на много мелких клеток, причем их суммарный объем не увеличивается. Исключение составляет эмбрион млекопитающих. Уже на ранних стадиях он начинает расти, получая питательные вещества от матери через плаценту. Поэтому яйцеклетка млекопитающих, будучи достаточно большой, тем не менее значительно уступает по размерам яйцеклеткам лягушек или птиц. Типичная яйцеклетка имеет сферическую или овоидную форму, а диаметр ее составляет у человека и морского ежа (у которого самостоятельно питающаяся личинка мала) около 0,1 мм, у лягушек



Рис. 21.20. Яйцеклетки трех видов животных в натуральную величину. Диаметр яйцеклетки человека составляет 0,1 мм. (В курином яйце яйцеклеткой является желток. — Прим. ред.)

и рыб — от 1 до 2 мм, а у птиц и рептилий измеряется сантиметрами (рис. 21.20). Для сравнения: величина типичной соматической клетки составляет всего лишь около 10–30 мкм (рис. 21.21).

В цитоплазме яйцеклетки питательные вещества обычно запасаются в форме *желтка*, богатого липидами, белками и полисахаридами. Он обычно содержится в дискретных образованиях, называемых *желточными гранулами*. У некоторых видов желточные гранулы окружены мембраной. В яйцеклетках, развитие которых протекает вне материнского организма и приводит к формированию крупных животных, желток может занимать более 95% всего объема, тогда как у млекопитающих, чьи эмбрионы получают большую часть питательных веществ от матери, объем желтка составляет небольшую часть объема яйцеклетки, если вообще присутствует.

1. Другой важной специфической структурой яйцеклетки является **наружная яйцевая оболочка** — особая форма внеклеточного матрикса, состоящего в основном из гликопротеиновых молекул, часть которых секретирует сама яйцеклетка, а другую часть — окружающие клетки. У многих видов оболочка имеет внутренний слой, непосредственно прилегающий к плазматической мембране яйцеклетки и называемый у млекопитающих *zona pellucida* (рис. 21.22), а у других позвоночных и беспозвоночных (например, у курицы или морского ежа) — *вителлиновым слоем*. Этот слой защищает яйцеклетку от механических повреждений; в некоторых яйцеклетках он действует также как видоспецифический барьер для сперматозоидов, позволяющий проникать внутрь только сперматозоидам того же вида или очень близких видов.

2. Многие яйцеклетки (в том числе и яйцеклетки млекопитающих) содержат специализированные секреторные пузырьки,

Рис. 21.21. Относительные размеры различных яйцеклеток и типичной соматической клетки.

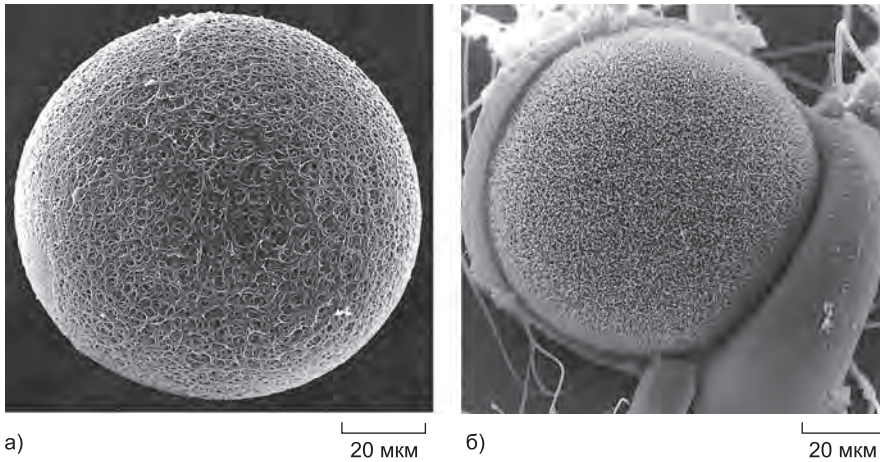


Рис. 21.22. Zona pellucida. Микрофотографии яйцеклетки хомяка, полученные методом сканирующей электронной микроскопии. *а)* Сверху яйцеклетку покрывает *zona pellucida*, с которой связываются головки сперматозоидов. *б)* Под ней находится плазматическая мембрана, образующая многочисленные микроворсинки. *Zona pellucida* вырабатывается исключительно самим развивающимся ооцитом. (Из D. M. Phillips, *J. Ultrastruct. Res.* 72: 1–12, 1980. С разрешения издательства Elsevier.

находящиеся под плазматической мембраной в наружном, или *кортикальном*, слое цитоплазмы. При активации яйцеклетки сперматозоидом эти **кортикальные гранулы** высвобождают содержимое путем экзоцитоза; в результате свойства яйцевой оболочки изменяются таким образом, что другие сперматозоиды уже не могут проникнуть через нее внутрь яйцеклетки.

Кортикальные гранулы обычно равномерно распределены во всем кортикальном слое яйцеклетки; другие же компоненты цитоплазмы у многих организмов расположены крайне асимметрично. Некоторые из этих компонентов впоследствии служат детерминантами клеток половой линии (рис. 21.16) либо участвуют в установлении полярности эмбриона, см. главу 22.

21.4.2. Яйцеклетка проходит в своем развитии несколько стадий

Развивающаяся яйцеклетка называется **ооцитом**; ее дифференцировка в зрелую яйцеклетку (или *яйцо*) включает в себя ряд высокоспециализированных стадий. Эти стадии синхронизированы с фазами мейоза, то есть двух последних делений клеток половой линии. Как обсуждалось выше, ооциты на длительный период задерживаются в профазе I, увеличиваясь в это время в размерах, а завершив первое деление мейоза, они в преддверии оплодотворения во многих случаях временно останавливают свое развитие на стадии метафазы II (хотя ожидать оплодотворения они могут, находясь на других стадиях клеточного цикла, в зависимости от вида животного).

Несмотря на то что детали развития яйцеклетки (оогенеза) различаются у разных видов, основные стадии сходны (рис. 21.23). Первичные половые клетки мигрируют в формирующуюся гонаду и превращаются в *оогонии*; после периода митотического размножения оогонии дифференцируются в *ооциты первого порядка*, которые приступают к первому делению мейоза; у млекопитающих это обычно

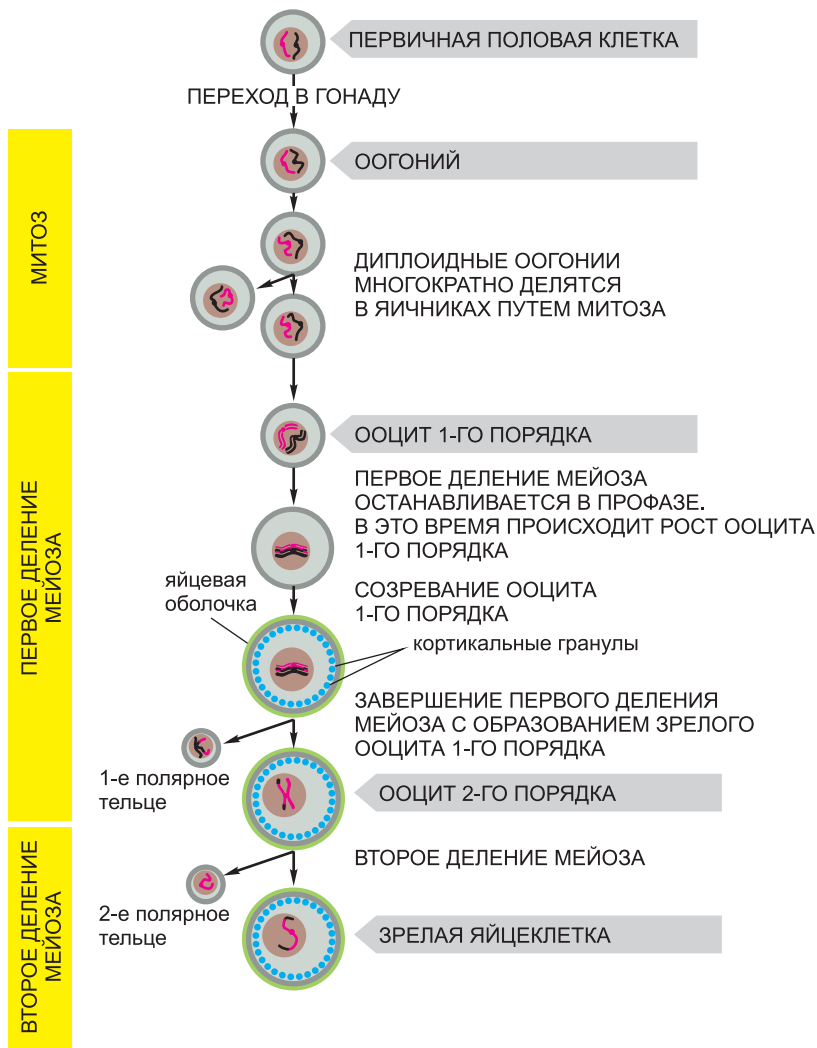


Рис. 21.23. Различные стадии оогенеза. Из первичных половых клеток, мигрирующих в яичник на ранней стадии эмбриогенеза, развиваются оогонии. Показана для простоты лишь одна пара гомологичных хромосом. После ряда митотических делений оогонии приступают к первому делению мейоза, и на этой стадии их называют уже ооцитами первого порядка. У млекопитающих ооциты первого порядка формируются очень рано и остаются на стадии профазы I (у человека это происходит между 3-м и 8-м месяцами эмбрионального развития) до тех пор, пока самка не достигнет половой зрелости. После этого под влиянием гормонов периодически созревает небольшое число ооцитов, которые завершают первое деление мейоза и превращаются в ооциты второго порядка. Последние претерпевают второе деление мейоза и становятся зрелыми яйцеклетками. Стадия, на которой яйцеклетка выходит из яичника и оплодотворяется, у разных животных различна. У большинства позвоночных созревание ооцитов приостанавливается на стадии метафазы II, и ооцит второго порядка завершает мейоз лишь после оплодотворения. Все полярные тельца в конечном счете дегенерируют. У большинства животных развивающийся ооцит окружают специализированные вспомогательные клетки, обслуживающие и питающие его (не показано).

происходит до рождения. Как упоминалось выше, перед началом первого деления мейоза происходит репликация ДНК, после чего каждая хромосома состоит из двух хроматид; в начале профазы I гомологичные хромосомы конъюгируют по всей своей длине, и между несестринскими хроматидами спаренных хромосом осуществляется кроссинговер (рис. 21.10). По завершении диплотены деление приостанавливается на то или иное время, которое может составлять от нескольких дней до многих лет в зависимости от вида организма. Во время этой затянувшейся профазы (или, в некоторых случаях, при наступлении половой зрелости) ооциты первого порядка синтезируют наружные оболочки и кортикальные гранулы. Большие ооциты тех видов, которые не относятся к млекопитающим, накапливают рибосомы, желток, гликоген, липиды и информационную РНК, которая впоследствии направляет синтез белков, необходимых для ранних стадий роста и развития эмбриона. Во многих ооцитах интенсивная биосинтетическая активность отражается на видимой структуре хромосом: они деспирализуются и образуют боковые петли, приобретая характерный вид «ламповых щеток», показывая, что гены в петлях активно транскрибируются (см. рис. 4.54 и 4.55).

Следующая фаза развития, называемая *созреванием ооцита*, как правило, начинается лишь с наступлением половой зрелости. Под влиянием гормонов возобновляется первое деление мейоза: хромосомы снова конденсируются, ядерная оболочка исчезает, собирается мейотическое веретено деления, и в анафазе I реплицированные гомологичные хромосомы расходятся в дочерние ядра, каждое из которых содержит теперь половину исходного числа хромосом. Но цитоплазма делится очень несимметрично, так что к концу первого деления получаются две клетки, резко различающиеся по величине: одна представлена маленьким *полярным тельцем*, а другая — большим **ооцитом второго порядка**, он и является предшественником яйцеклетки. На этой стадии каждая из хромосом все еще состоит из двух сестринских хроматид, соединенных в области центромеры; в таком виде хромосомы остаются вплоть до анафазы II, после чего цитоплазма большого ооцита второго порядка вновь делится асимметрично, что ведет к образованию зрелой **яйцеклетки** (или **яйца**) и еще одного маленького полярного тельца; при этом обе клетки получают гаплоидное число одиночных хромосом (см. рис. 21.23). Благодаря двум несимметричным делениям цитоплазмы ооциты сохраняют большую величину, хотя они и претерпели два деления мейоза. Все полярные тельца очень малы и в конце концов дегенерируют.

У большинства позвоночных созревание ооцитов продолжается до метафазы II и приостанавливается на этой стадии. При **овуляции** ооцит второго порядка, готовый к оплодотворению, освобождается из яичника. В случае, если оплодотворение происходит, блокировка деления снимается и клетка завершает мейоз. В этом состоянии яйцеклетка называется зиготой.

21.4.3. Яйцеклетка достигает крупных размеров благодаря специальным механизмам

Небольшой соматической клетке диаметром 10–20 мкм обычно необходимо около суток, чтобы удвоить массу при подготовке к делению. Той же клетке при таких же скоростях синтеза макромолекул понадобилось бы много времени, чтобы достичь в тысячу раз большей массы, характерной для яйцеклетки млекопитающего (диаметр 100 мкм), и еще больше времени — чтобы достичь в миллион раз большей

массы яйца насекомого (диаметр 1 000 мкм). Между тем, некоторые насекомые живут всего лишь несколько дней и ухитряются производить яйца, диаметр которых даже больше 1000 мкм. Ясно, что их яйцеклетки должны обладать особыми механизмами для достижения столь крупных размеров.

Одним из факторов, способствующих такому росту, является наличие в клетке дополнительных копий генов. Ооциты растут в основном после репликации ДНК, пока деление клетки находится на стадии диплотены в профазе I. Поэтому яйцеклетки содержат удвоенный диплоидный набор хромосом в течение большей части периода их роста. Таким образом, у них имеется вдвое больше ДНК для синтеза РНК, чем у средней соматической клетки в фазе G_1 клеточного цикла. В некоторых яйцеклетках процесс накопления дополнительной ДНК идет еще дальше, приводя к образованию большого числа добавочных копий определенных генов. В главе 6 мы уже видели, что для образования достаточного числа рибосом, на которых происходит синтез белков, соматическим клеткам большинства организмов требуется от 100 до 500 копий генов рибосомной РНК. Поскольку яйцеклетки нуждаются в еще большем количестве рибосом для белкового синтеза на ранних стадиях эмбриогенеза, в яйцеклетках многих животных гены рРНК активно амплифицируются; так, в яйцах некоторых амфибий содержится 1–2 миллиона копий таких генов.

Рост многих яиц в какой-то степени зависит от биосинтетической активности других клеток. Например, желток обычно синтезируется вне яичника и затем переносится в ооцит. У птиц, амфибий и насекомых белковые вещества желтка образуются в клетках печени (или их функциональных аналогах), которые выделяют эти вещества в кровь. Ооциты, находящиеся в яичниках, извлекают эти будущие белковые компоненты желтка из внеклеточной жидкости путем эндоцитоза при участии специфических рецепторов (см. рис. 13.46). Питанию ооцитов могут также способствовать вспомогательные клетки, находящиеся в яичнике. Эту функцию в зависимости от вида организма выполняют вспомогательные клетки двух различных типов. У некоторых беспозвоночных отдельные потомки оогониев превращаются не в ооциты, а в **клетки-кормилицы**. Эти клетки обычно соединены с яйцеклеткой цитоплазматическими мостиками, по которым макромолекулы могут прямо переходить в ее цитоплазму (рис. 21.24). Клетки-кормилицы синтезируют для яйцеклеток

насекомых такие компоненты (рибосомы, мРНК, белки и тому подобное), которые у позвоночных яйцеклетка производила бы для себя сама.

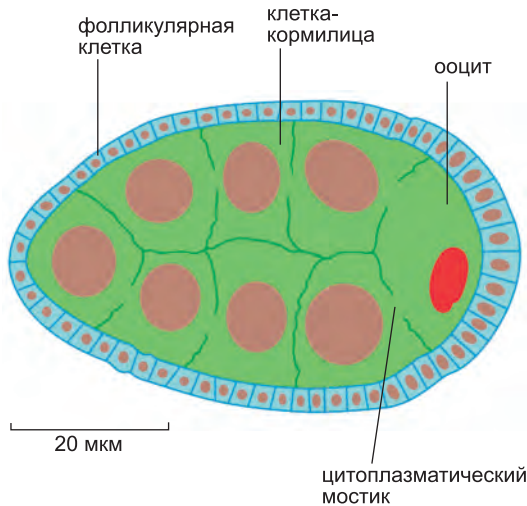


Рис. 21.24. Клетки-кормилицы и фолликулярные клетки, связанные с ооцитом дрозофилы. Из одного оогония развиваются 15 клеток-кормилиц и единственный ооцит (на рисунке в плоскость среза попадают лишь 7 клеток-кормилиц). Все эти клетки связаны между собой цитоплазматическими мостиками, образовавшимися в результате неполного деления. В конце концов клетки-кормилицы впрыскивают содержимое своей цитоплазмы в развивающийся ооцит и погибают. Фолликулярные клетки развиваются независимо из клеток мезодермы.

Еще один вид вспомогательных клеток, которые помогают обеспечить питание развивающихся ооцитов, — это соматические **фолликулярные клетки**, имеющиеся как у позвоночных, так и у беспозвоночных. Они расположены вокруг ооцита в виде эпителиального слоя (рис. 21.25 и также 21.24) и связаны с ним и друг с другом *щелевыми контактами*, через которые могут проходить малые молекулы, но не макромолекулы (см. главу 19). Хотя фолликулярные клетки не могут через эти контакты снабжать ооцит готовыми макромолекулами, они помогают обеспечить его малыми молекулами-предшественниками, из которых образуются макромолекулы. Особое значение щелевых контактов элегантно показано на примере яичника мыши: в этом случае белки щелевых контактов (*коннексины*), участвующие в соединениях фолликулярных клеток друг с другом, отличаются от тех белков, которые соединяют их с яйцеклеткой. Если мышь не экспрессирует какой-либо из этих белков, то ни фолликулярные клетки, ни ооцит не могут развиваться нормально, поэтому самки таких мышей стерильны. У многих видов фолликулярные клетки выделяют макромолекулы, которые либо входят в состав оболочки яйцеклетки, либо путем эндоцитоза поступают в растущий ооцит, либо взаимодействуют с поверхностными рецепторами яйцеклетки, управляя пространственным расположением ее компонентов и осевой асимметрией (см. главу 22).

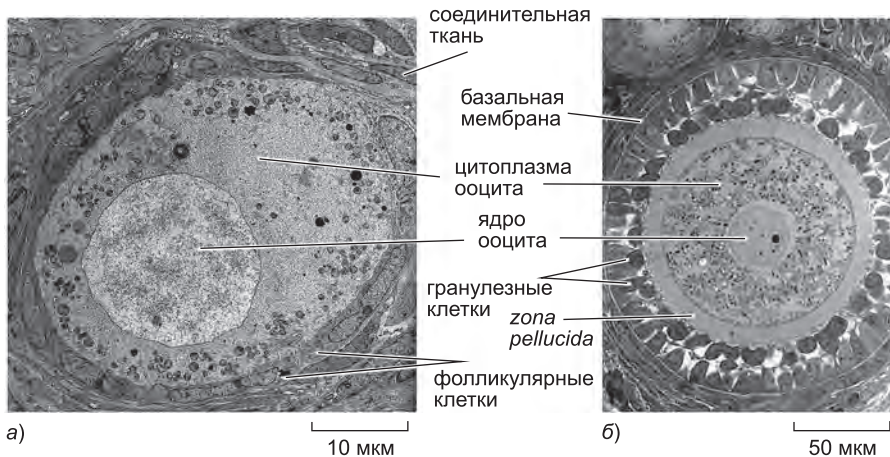


Рис. 21.25. Электронные микрофотографии развивающихся ооцитов первого порядка в яичнике крольчихи. а) Ооцит первого порядка на ранней стадии развития. *Zona pellucida* (блестящая оболочка) и кортикальные гранулы еще не сформировались, и ооцит покрывает лишь один слой уплощенных фолликулярных клеток. б) Более зрелый ооцит первого порядка; он гораздо больше ооцита, изображенного на микрофотографии (а), поэтому увеличение уменьшено в шесть раз. У этого ооцита уже есть толстая *zona pellucida*, и его окружают фолликулярные клетки (теперь они называются гранулезными), а также базальная мембрана, отделяющая ооцит от других клеток яичника. Гранулезные клетки соединены друг с другом и с ооцитом посредством щелевых контактов. (Из книги *The Cellular Basis of Mammalian Reproduction* [J. Van Blerkom and P. Motta eds.]. Baltimore-Munich: Urban & Schwarzenberg, 1979.)

Сообщение между ооцитом и его фолликулярными клетками — двустороннее; судя по всему, ооцит посылает фолликулярным клеткам сигналы, синхронизирующие процессы развития этих клеток. Наличие у ооцита встроенной программы развития, определяющей скорость созревания фолликулярных клеток, показывают эксперименты, в которых молодые ооциты соединяются с более поздними фолликулярными клетками, и наоборот.

21.4.4. Большинство яйцеклеток человека погибает до созревания

На рис. 21.26 изображены стадии развития яйцеклетки в яичнике человека. Большинство ооцитов первого порядка в яичнике новорожденной девочки окружены одиночным слоем фолликулярных клеток. Вместе с фолликулярными клетками такой ооцит образует *первичный (примордиальный) фолликул* (см. рис. 21.25, а). Время от времени, иногда еще до рождения, несколько первичных фолликулов начинают расти, становясь *развивающимися фолликулами*. На этой стадии фолликулярные клетки называются *гранулезными клетками* и окружают растущий

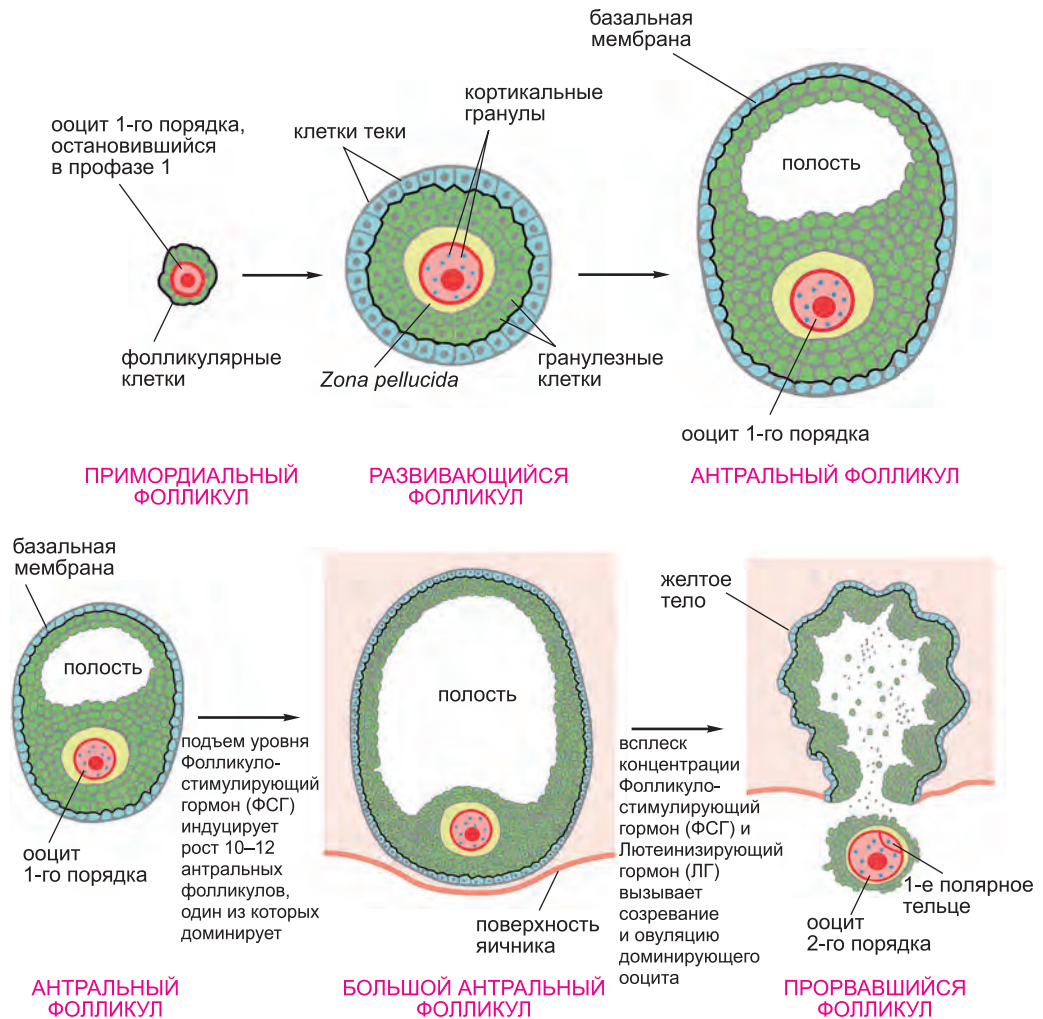


Рис. 21.26. Стадии развития ооцита человека. Обратите внимание, на протяжении почти всего развития ооцит окружен гранулезными клетками (показаны зеленым), отделенными от внешнего слоя клеток теки (голубой цвет) базальной мембраной (черная линия). После овуляции пустой фолликул трансформируется в эндокринную железу — желтое тело, вырабатывающее прогестерон, который способствует подготовке матки к возможной беременности. Если оплодотворения не происходит, желтое тело рассасывается, а выстилка матки отслаивается и выходит наружу при менструации.

ооцит в несколько слоев (см. рис. 21.25, б). Причины, побуждающие первичные фолликулы расти, неизвестны. В некоторых из развивающихся фолликулов образуется полость (*антрум*), заполненная жидкостью; такие фолликулы называются антральными.

По достижении половой зрелости гипофиз выплескивает в кровь фолликуло-стимулирующий гормон (ФСГ), ускоряющий рост 10–12 антральных фолликулов. В итоге один из этих фолликулов начинает доминировать, а ближе к середине менструального цикла всплеск ФСГ и лютеинизирующего гормона (ЛГ) запускает овуляцию: доминирующий ооцит первого порядка завершает первое деление мейоза, превращаясь в ооцит второго порядка, деление которого приостанавливается в метафазе II. Фолликул быстро увеличивается в размерах и прорывается на поверхности яичника, высвобождая ооцит второго порядка, все еще окруженный оболочкой из гранулезных клеток и богатого гиалуроновой кислотой гелеобразного матрикса. Ооцит сможет завершить второе деление мейоза лишь в том случае, если он будет оплодотворен сперматозоидом не позже, чем через сутки (или чуть более того).

Одна из загадочных особенностей созревания яйцеклетки у человека состоит в том, что лишь малая часть из многочисленных антральных фолликулов, имеющих в яичниках к моменту ежемесячного выброса ФСГ, начинает расти, и из этих растущих фолликулов только один завершает созревание и высвобождает ооцит, а остальные обречены на дегенерацию. Вероятно, тотчас после того, как созревание «избранного» фолликула достигло определенной критической точки, вступает в действие некий механизм обратной связи, благодаря которому никакой другой фолликул не может созреть и претерпеть овуляцию в том же цикле. Какой бы механизм здесь ни работал, факт остается фактом: в течение примерно 40-летнего репродуктивного периода у женщины выделяется лишь 400–500 яйцеклеток. Оставшиеся миллион (или около того) ооцитов первого порядка, имевшихся в организме к моменту рождения, дегенерируют. До сих пор остается загадкой, почему огромное число яйцеклеток формируется лишь для того, чтобы затем погибнуть.

Заключение

В своем развитии ооцит претерпевает несколько стадий. Он развивается из первичных половых клеток (ППК), которые переместились в развивающуюся половую железу и превратились в оогонии. После серии митотических делений оогоний вступает в первое деление мейоза и становится ооцитом первого порядка. Ооциты первого порядка находятся на конечной стадии диплотены профазы I в течение нескольких суток или лет, в зависимости от вида животного. В это время они растут, приобретают оболочку, а также накапливают рибосомы, мРНК и белки. Часто им в этом помогают другие клетки, в том числе окружающие их фолликулярные клетки. Для нормального роста и развития ооцита необходимо двустороннее сообщение между ооцитами и их фолликулярными клетками. Специальные гормоны стимулируют созревание ооцита, при котором ооцит первого порядка завершает первое деление мейоза, образуя маленькое полярное тельце и большой ооцит второго порядка, который начинает второе деление мейоза и останавливается на стадии метафазы II. У большинства позвоночных ооцит второго порядка находится в метафазе II вплоть до оплодотворения, после которого он завершает свое деление, и начинается развитие эмбриона.

21.5. Сперматозоид

У большинства видов имеется два вида гамет, поразительно отличающихся друг от друга. Если яйцеклетка — одна из самых крупных клеток организма, то **сперматозоид (spermatozoon, spermatozoa)** обычно меньше всех других клеток. И яйцеклетка, и сперматозоид наилучшим образом, хотя и по-разному, приспособлены для распространения содержащихся в них генов. Неподвижная яйцеклетка обеспечивает выживаемость материнских генов за счет больших запасов «сырья», используемого для роста и развития, а также благодаря прекрасной защитной оболочке. В противоположность этому сперматозоид обычно наилучшим образом справляется с задачей оплодотворения, то есть сохранения отцовских генов за счет материнских «капиталовложений», благодаря тому, что является исключительно подвижным и обладает обтекаемой формой, позволяющей ему быстро двигаться. Сперматозоиды действуют в условиях жесточайшей конкуренции, и подавляющее их большинство погибает в процессе исполнения своей миссии: из миллиардов сперматозоидов, выделяемых мужчиной в течение репродуктивного периода жизни, лишь считанные единицы достигают своей цели и оплодотворяют яйцеклетку.

21.5.1. Сперматозоиды отлично приспособлены для внесения своей ДНК в яйцеклетку

Сперматозоид представляет собой «облегченный вариант» клетки: он снабжен мощным жгутиком, благодаря которому движется в жидкой среде, но не обременен такими органеллами, как рибосомы, эндоплазматический ретикулум или аппарат Гольджи, присутствия которых не требуется для передачи ДНК яйцеклетке. С другой стороны, сперматозоиды содержат много митохондрий, расположенных в тех местах, где они могут наиболее эффективно снабжать энергией жгутик. Сперматозоид

обычно состоит из двух морфологически и функционально различающихся частей, заключенных в единую плазматическую мембрану: хвоста, который продвигает всю клетку по направлению к яйцу и способствует прохождению сперматозоида через яйцевую оболочку, и головки, содержащей сильно уплотненное гаплоидное ядро (рис. 21.27). ДНК в ядре неактивна и исключительно плотно упакована, так что объем ее доведен до минимума. Хромосомы многих сперматозоидов обходятся даже без гистонов, свойственных соматическим клеткам, вместо этого здесь имеются простые белки — *протамины*, обладающие большим положительным зарядом, а также специальные гистоны, характерные для сперматозоидов.

В головке сперматозоида, вплотную к передней части ядерной мембраны расположен специализированный секреторный пузырек, назы-

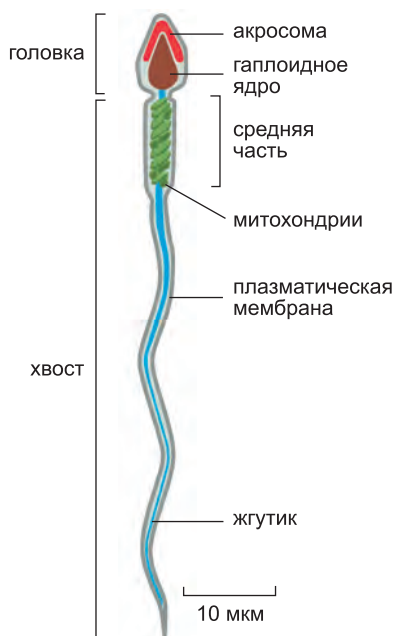
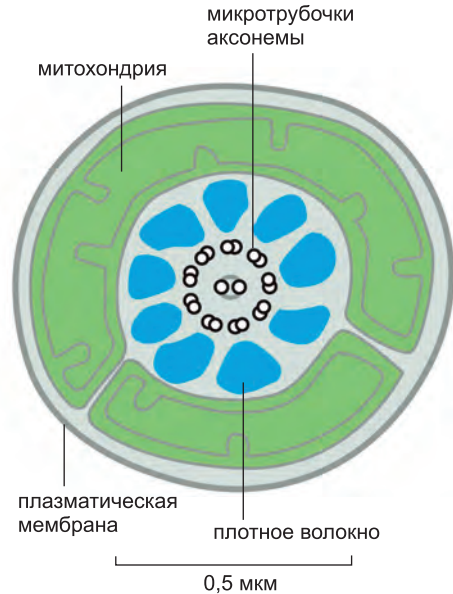


Рис. 21.27. Сперматозоид человека в продольном разрезе.

Рис. 21.28. Средняя часть сперматозоида млекопитающего в поперечном разрезе (по данным электронной микроскопии). Жгутик состоит из аксонемы и девяти окружающих ее плотных волокон. Устройство аксонемы включает две одиночные микротрубочки, окруженные девятью двойными микротрубочками. Необычное расположение митохондрий (зеленый цвет) обеспечивает эффективную доставку АТФ, необходимого для движения жгутика; они образуют спираль вокруг аксонемы (см. рис. 21.27).



ваемый **акросомой**. Этот пузырек содержит гидролитические ферменты, позволяющие сперматозоиду пройти сквозь наружные яйцевые оболочки. Когда его головка приходит в контакт с яйцеклеткой, содержимое акросомы высвобождается путем экзоцитоза (так называемая *акросомальная реакция*). У беспозвоночных в ходе этой реакции выводятся наружу специфические белки, прочно прикрепляющие сперматозоид к яйцевой оболочке и позволяющие затем пройти сквозь нее и слиться с яйцеклеткой.

Подвижный хвост сперматозоида представляет собой длинный жгутик, центральная *аксонема* которого начинается от базального тельца, расположенного сразу за ядром. Ранее (см. главу 16) уже отмечали, что аксонема состоит из двух одиночных центральных микротрубочек, окруженных девятью равноотстоящими друг от друга дублетами микротрубочек. У некоторых животных (в том числе у млекопитающих) жгутик сперматозоида отличается от других жгутиков тем, что вокруг его аксонемы лежат еще девять внешних *плотных волокон*, так что, вместо обычной схемы $9 + 2$, мы имеем здесь схему $9 + 9 + 2$ (рис. 21.28). Эти плотные волокна не могут сокращаться; считается, что они придают жгутику жесткость и способность сопротивляться действию поперечных сил. Нарушения их формирования приводят к аномальной морфологии сперматозоида и мужскому бесплодию. Энергичные изгибы жгутика вызываются скольжением соседних дублетов микротрубочек друг относительно друга благодаря двигательным белкам — динеинам. Энергию для движения жгутика поставляет гидролиз АТФ, синтезируемого высокоспециализированными митохондриями, которые находятся именно там, где они больше всего нужны, то есть в передней части хвоста (называемой *средней частью* сперматозоида).

21.5.2. В семенниках млекопитающих сперматозоиды образуются постоянно

В отличие от мейотического деления предшественников яйцеклетки, начинающегося еще до рождения и приостановленного на стадии профазы I до наступления половой зрелости, мейоз и последующая выработка сперматозоидов (**сперматогенез**) у мужчин начинается только после полового созревания. Затем сперматогенез непрерывно продолжается в эпителиальной выстилке очень длинных, сильно извитых трубочек, называемых *семенными канальцами*. Незрелые половые клетки, называемые *сперматогониями*, располагаются на самой периферии канальца, у базальной

мембраны, где они все время делятся путем митоза (рис. 21.29, а). Большая часть этих клеток после нескольких митозов перестает делиться и вступает в первое деление мейоза, становясь *сперматоцитами первого порядка*; сперматоциты первого порядка делятся с образованием *сперматоцитов второго порядка*, которые дифференцируются в *сперматиды*, а затем — в зрелые сперматозоиды (рис. 21.29, б). Малая часть сперматогониев служит стволовыми клетками: эти клетки в течение всей жизни медленно митотически делятся, а их дочерние клетки либо идут по пути созревания, либо остаются стволовыми клетками.

Этапы сперматогенеза и их соотношение с делениями мейоза показаны на рис. 21.30. В профазе I мейоза происходит кроссинговер между спаренными гомологичными хромосомами, а затем сперматоциты первого порядка заканчивают первое деление, образуя по два сперматоцита второго порядка; у человека каждый

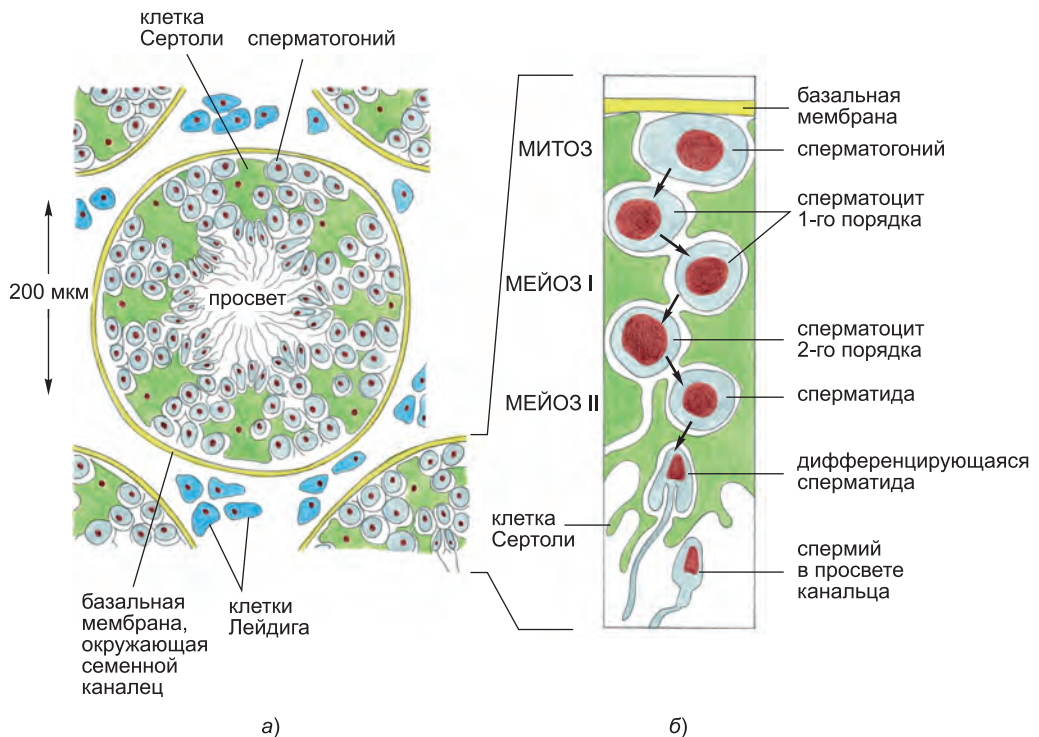


Рис. 21.29. Крайне упрощенная схема поперечного разреза семенного канальца семенника млекопитающего. а) На всех представленных здесь стадиях сперматогенеза развивающиеся гаметы тесно связаны с клетками Сертоли; последние направляют дифференцировку мужских половых клеток и представляют собой крупные клетки, занимающие пространство от базальной мембраны до просвета семенного канальца. Они необходимы для выживания сперматогониев и аналогичны фолликулярным клеткам яичника (см. рис. 21.19). На ход сперматогенеза оказывает влияние тестостерон, выделяемый клетками Лейдига, которые располагаются в промежутках между семенными канальцами. б) Делящиеся митозом сперматогонии находятся вблизи базальной мембраны. Некоторые из этих клеток приступают к мейозу, превращаясь в сперматоциты первого порядка. Затем они завершают первое деления мейоза и становятся сперматоцитами второго порядка. Последние в результате второго деления митоза превращаются в сперматиды, а те — в сперматозоиды (спермии), которые в конце концов выходят в просвет канальца (см. рис. 21.30). Завершение сперматоцитом мейоза и превращение его в сперматиду занимает у человека около 24 дней, и еще 5 недель требуется на превращение сперматиды в сперматозоид.

изних содержит 22 дублированные аутосомы и одну дублированную хромосому X или Y. Два сперматоцита второго порядка претерпевают второе деление мейоза, образуя четыре сперматиды с гаплоидным числом одиночных хромосом. Затем такие гаплоидные сперматиды в результате морфологической дифференцировки превращаются в зрелые сперматозоиды, которые выходят в просвет семенного канальца, а позднее — в *придаток семенника*, представляющий собой извитую трубочку, охватывающую семенник; здесь они накапливаются и здесь же продолжается их созревание. Однако такие сперматозоиды все еще не готовы к оплодотворению яйцеклетки. Как мы расскажем чуть позже, их созревание завершается в женских половых путях; этот процесс называется *капацитацией*.

21.5.3. Сперматозоиды образуют синцитий

Одна из загадочных и уникальных особенностей сперматозоидов состоит в том, что в процессе их созревания митотические и мейотические деления не сопровождаются полным, доведенным до конца делением цитоплазмы (цитокinesis); поэтому все дифференцирующиеся дочерние клетки, происходящие из одного сперматогония, соединены цитоплазматическими мостиками (рис. 21.31). Такие мостики остаются до самого конца дифференцировки сперматозоидов, то есть до того момента, когда отдельные сперматозоиды переходят в просвет канальцев. Группа клеток, связанных подобным образом, называется синцитием. Наличие этой структуры объясняет синхронность появления зрелых сперматозоидов в любом данном участке семенного канальца. Какова же роль такого синцитиального образования?

Мы уже знаем, что растущие и развивающиеся ооциты содержат диплоидный набор удвоенных хромосом. У сперматозоидов же дифференцировка в основном осуществляется после того, как их ядра претерпевают мейоз и становятся гаплоидными. Однако благодаря цитоплазматическим мостикам соседние клетки имеют общую цитоплазму, поэтому каждый развивающийся гаплоидный сперматозоид может получать весь набор продуктов полного диплоидного генома. Например, развивающийся сперматозоид, несущий Y-хромосому, может получать от смежных клеток необходимые для выживания белки, кодируемые генами X-хромосомы. Таким образом, в дифференцировке сперматозоида, так же как в созревании яйцеклетки, участвует диплоидный набор хромосом.

Некоторые гены, регулирующие сперматогенез, свойственны всем животным от плодовых мушек до человека. Например, к таким генам относятся гены *Daz*, кодирующие РНК-связывающие белки и собранные в кластер на Y-хромосоме. Этот кластер часто отсутствует у мужчин, страдающих бесплодием; многие из них вообще не вырабатывают сперматозоидов. Ген дрозофилы, гомологичный человеческим генам *Daz*, имеет столь же большое значение для сперматогенеза у плодовых мушек: самцы мушек, у которых нет гомолога гена *Daz*, бесплодны, так как не производят сперматозоидов. Что примечательно, такое бесплодие можно вылечить введением в геном дрозофилы гена *Daz* человека. Особая роль РНК-связывающих белков в сперматогенезе объясняется тем, что экспрессия многих генов, ответственных за созревание сперматозоидов, регулируется на уровне трансляции.

Заключение

Сперматозоид обычно представляет собой маленькую и компактную клетку, которая в высокой степени специализирована для оплодотворения яйце-

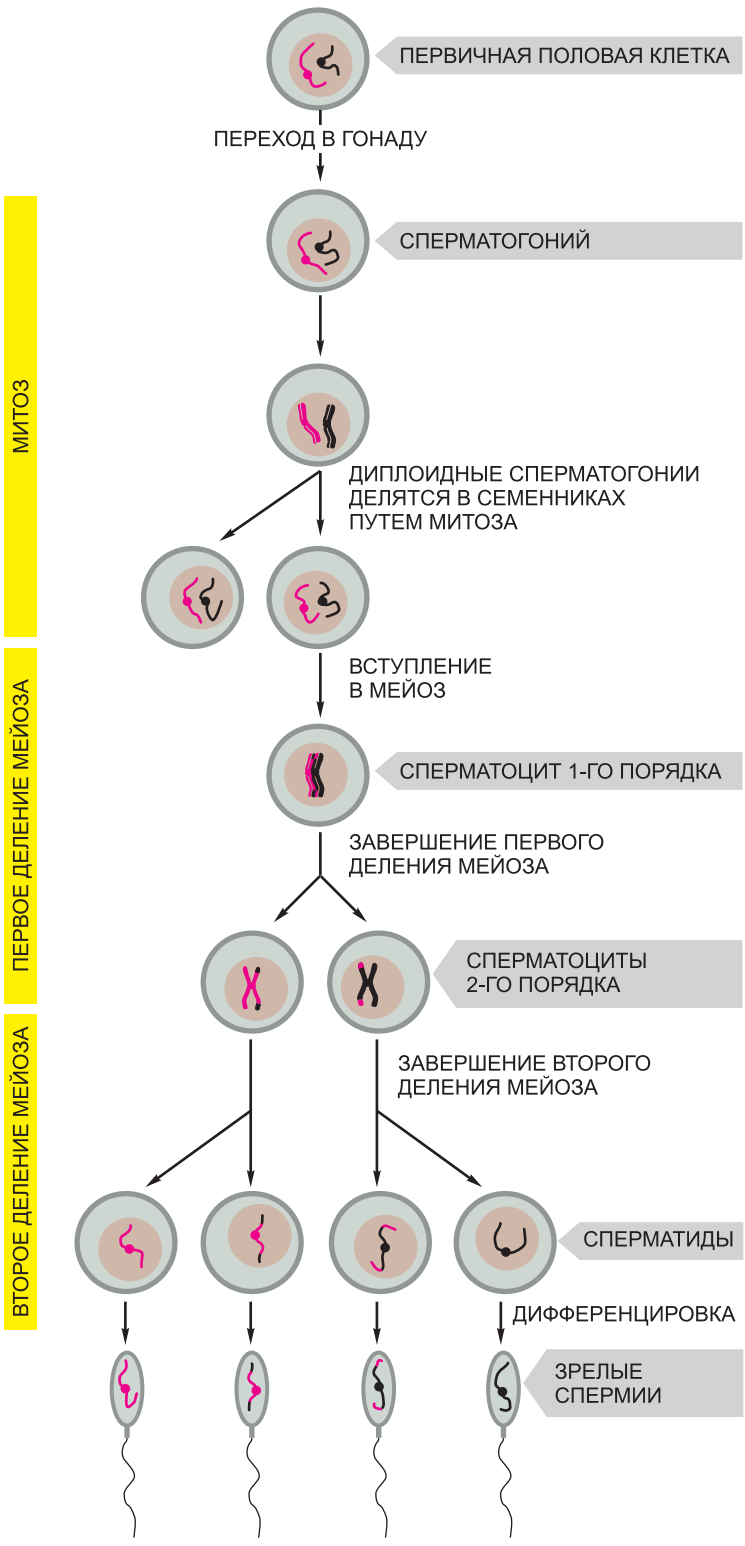


Рис. 21.30. (слева) Различные стадии сперматогенеза. Сперматогонии развиваются из первичных половых клеток, мигрирующих в семенники на ранней стадии эмбрионального развития. Когда животное достигает половой зрелости, сперматогонии начинают быстро размножаться, причем некоторая часть их потомков сохраняет способность к непрерывным неограниченным делениям (сперматогонии типа стволовых клеток), а другая часть (созревающие сперматогонии) после ограниченного числа последовательных митозов приступает к мейозу, превращаясь в сперматоциты первого порядка. После завершения второго деления мейоза сперматоциты первого порядка превращаются в гаплоидные сперматиды, дифференцирующиеся в зрелые сперматозоиды. Сперматогенез отличается от оогенеза (см. рис. 21.23) в нескольких отношениях: 1) после полового созревания в мейоз непрерывно вступают новые клетки; 2) из каждой приступившей к мейозу клетки образуется не одна, а четыре зрелые гаметы; 3) зрелые сперматозоиды формируются после завершения мейоза в ходе сложного процесса клеточной дифференцировки, и 4) при созревании сперматозоидов происходит примерно в два раза больше клеточных делений, чем при формировании яйцеклетки. Так, например, у мышей зиготу от зрелого сперматозоида отделяют в среднем 56 делений, а от зрелой яйцеклетки — примерно 27.

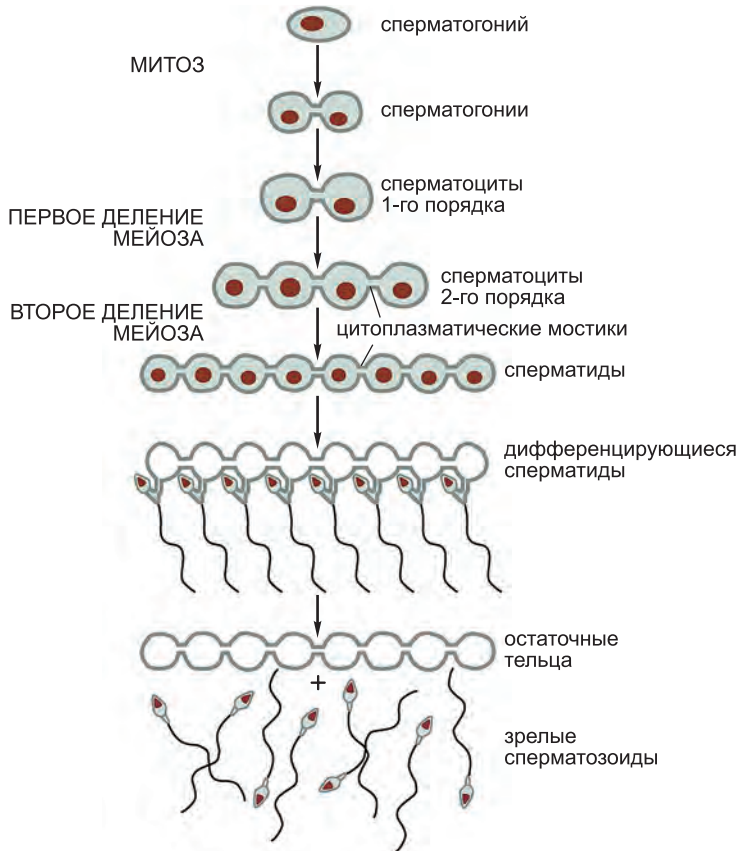


Рис. 21.31. Цитоплазматические мостики между развивающимися мужскими половыми клетками и их предшественниками. Потомки одного сперматогония связаны друг с другом цитоплазматическими мостиками вплоть до полного созревания. На рисунке для простоты мостиками соединены лишь две клетки, вступающие в мейоз и дающие в итоге восемь связанных гаплоидных сперматид. На самом деле мостики могут соединять намного больше клеток. Обратите внимание, что в процессе дифференцировки большая часть цитоплазмы (так называемые остаточные тельца) оказывается невостребованной и фагоцитируется клетками Сертоли.

клетки. В то время как у женщин довольно много ооцитов образуется еще до ее рождения, у мужчин сперматогенез начинается лишь после наступления половой зрелости, зато с этого момента в мейоз непрерывно вступают все новые и новые половые клетки. Каждый сперматоцит первого порядка дает начало четырем зрелым сперматозоидам. У человека процесс созревания сперматозоида (с момента мейоза) длится пять недель. Однако, поскольку при митотическом делении созревающих сперматогониев и сперматоцитов цитокинез не доводится до конца, потомки одного сперматогония развиваются в виде синцития. В связи с этим дифференцировка сперматозоида может контролироваться продуктами хромосом от обоих родителей, несмотря на то что ядро каждого сперматозоида гаплоидно.

21.6. Оплодотворение

После выхода из гонады как яйцеклетка, так и сперматозоид обречены на гибель в считанные часы, если они не отыщут друг друга и не сольются в процессе **оплодотворения**. Оплодотворение спасает эти клетки от гибели: яйцеклетка активируется и приступает к осуществлению программы развития, ядра двух гамет сливаются, формируя таким образом геном нового организма. В прошлом оплодотворение интенсивно изучалось на морских ежах и морских звездах, у которых оплодотворение осуществляется в морской воде, куда выводятся огромные количества сперматозоидов и яиц. Такой процесс наружного оплодотворения гораздо более доступен для изучения, чем внутреннее оплодотворение у млекопитающих, осуществляющееся в половых путях самки. Однако в конце 50-х гг. появились методы оплодотворения яйцеклеток млекопитающих *in vitro*; это помогло пролить свет на события, происходящие при оплодотворении у млекопитающих, и изучить этот процесс на клеточном и молекулярном уровнях.

В этом разделе речь пойдет об оплодотворении у млекопитающих. Сначала мы рассмотрим процесс созревания сперматозоида, когда он проходит по женским половым путям. Затем мы опишем события, происходящие при прикреплении сперматозоида к яйцевой оболочке (*zona pellucida*), индуцирующую акросомальную реакцию, в результате которой сперматозоид может пройти сквозь оболочку и слиться с яйцеклеткой. Затем мы рассмотрим связывание сперматозоида с плазматической мембраной яйцеклетки и последующее слияние с ней. Обсудив, как слияние со сперматозоидом активирует яйцеклетку и как гаплоидные ядра двух гамет сливаются друг с другом, завершая процесс оплодотворения, мы вкратце расскажем о быстро развивающихся репродуктивных технологиях, которые произвели революцию в преодолении бесплодия и открыли новые возможности управления репродуктивными процессами.

21.6.1. Созревание сперматозоида завершается в женских половых путях

У человека из 300 000 000 сперматозоидов, выделяемых при соитии, лишь около двухсот достигают яйцеклетки, находящейся в *фаллопиевой трубе* (*яйцевод*). Когда сперматозоид находит яйцеклетку, он должен пройти через слой гранулезных клеток, окружающих яйцеклетку, а затем связаться с *zona pellucida* и пересечь ее. Наконец, ему предстоит связаться и слиться с плазматической мембраной яйцеклетки.

Сразу после эякуляции сперматозоиды млекопитающих не готовы к выполнению ни одной из этих задач. Проникнув в женские половые пути, они попадают в новые условия, в результате чего приобретают несколько иные свойства. Сперматозоиду необходимо приобрести способность к проникновению через оболочку яйцеклетки — **капацитацию**. У человека капацитация занимает обычно 5–6 часов и завершается лишь тогда, когда сперматозоид достигает яйцевода. За это время сперматозоид претерпевает значительные биохимические и функциональные изменения. В частности, меняется гликопротеиновый и липидный состав плазматической мембраны, свойства ее ионных каналов, а также значительно изменяется ее потенциал покоя (мембранный потенциал сдвигается в сторону более отрицательных значений). Кроме того, при капацитации повышается рН цитоплазмы, увеличивается степень фосфорилированности по тирозину у некоторых белков сперматозоида и демаскируются некоторые скрытые рецепторы, способствующие связыванию с *zona pellucida*. Меняется и поведение сперматозоида: подвижность его жгутика сильно возрастает, а сперматозоид готовится к акросомной реакции.

В подходящей культуральной среде капацитация может происходить и *in vitro*; обычно она является обязательным условием оплодотворения *in vitro*. Для этого в среде должны присутствовать три компонента, обычно содержащихся в высокой концентрации в женских половых путях: альбумин, Ca^{2+} и HCO_3^- . Белок альбумин помогает экстрагировать из плазматической мембраны холестерин, что позволяет реагировать ей с мембраной акросомы при акросомальной реакции. Ca^{2+} и HCO_3^- входят внутрь сперматозоида и напрямую активируют в цитоплазме растворимую аденилатциклазу, начинающую вырабатывать циклический АМР (см. главу 15), который участвует в инициации многих изменений, связанных с капацитацией.

21.6.2. Капацитированный сперматозоид связывается с *zona pellucida* и запускает акросомную реакцию

В процессе овуляции яйцеклетка млекопитающего выходит из яичника в брюшную полость недалеко от входа в фаллопиеву трубу, куда она вскоре и попадает. Она покрыта несколькими слоями гранулезных клеток, погруженных во внеклеточный матрикс, содержащий много гиалуроновой кислоты (см. главу 19). Возможно, гранулезные клетки способствуют захвату яйцеклетки яйцеводом и, может быть, вырабатывают аттрактанты для сперматозоида.

Столкнувшись с яйцеклеткой, капацитированный сперматозоид сначала должен преодолеть слой гранулезных клеток, используя фермент гиалуронидазу, находящийся на его поверхности. После этого сперматозоид сможет связаться с ***zona pellucida***, или **блестящей оболочкой** (см. рис. 21.22). Этот слой обычно не позволяет сперматозоидам других видов оплодотворять яйцеклетку, а его удаление снимает этот барьер. Например, человеческий сперматозоид может оплодотворить яйцеклетку хомяка, у которой *zona pellucida* была удалена специальными ферментами; неудивительно, что получившаяся в результате зигота не развивается. Яйцеклетки хомяка без *zona pellucida* часто используются при диагностике бесплодия в тестах *in vitro* на способность сперматозоидов пациента к оплодотворению (рис. 21.32).

Zona pellucida большинства яйцеклеток млекопитающих состоит из трех основных гликопротеинов. Все они в большом количестве вырабатываются растущим ооцитом. Два из них, ZP2 и ZP3, образуют длинные филаменты, а третий, ZP1, сшивает филаменты в трехмерную сеть. Присутствие белка ZP3 необходимо: самки мышей с мутацией в гене *Zp3* производят стерильные яйцеклетки, лишённые *zona pellucida*. Похоже, что

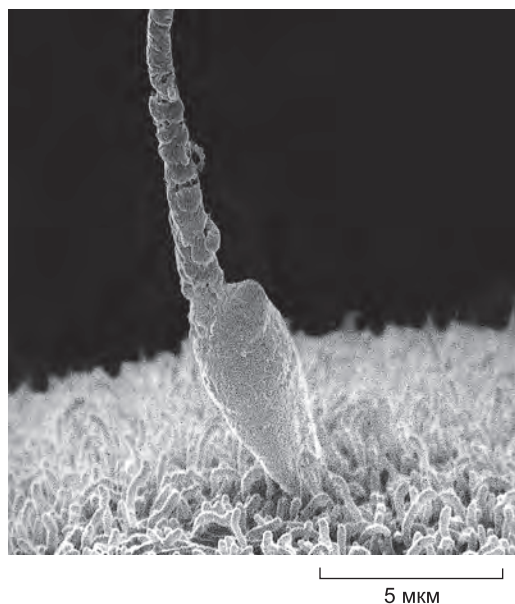


Рис. 21.32. Сперматозоид человека, связавшийся с поверхностью яйцеклетки хомяка: электронная микрофотография, полученная методом сканирующей электронной микроскопии. *Zona pellucida* яйцеклетки удалена, и видна плазматическая мембрана со множеством микроворсинок. Тест на способность сперматозоидов проникать в яйцеклетки хомяка используют для определения мужского бесплодия; нормальным уровнем считают проникновение в 10–25 % яйцеклеток. (С любезного разрешения David M. Phillips.)

О-связанные олигосахариды ZP3 по крайней мере отчасти ответственны за видоспецифическое связывание спермия с *zona pellucida*. Процесс связывания, однако, сложен и включает как механизмы с участием ZP3, так и механизмы, в которых он не фигурирует; кроме того, в связывании принимает участие множество белков на поверхности сперматозоида.

Связь с *zona pellucida* заставляет сперматозоид запустить **акросомальную реакцию**, при которой содержимое акросомы высвобождается наружу посредством экзоцитоза (рис. 21.33). Акросомальная реакция необходима для нормального оплодотворения, поскольку при этом на поверхности сперматозоида появляются различные гидролитические ферменты, которые, как предполагают, помогают сперматозоиду продвигаться сквозь *zona pellucida*, а свойства самой поверхности меняются таким образом, что сперматозоид теперь может связаться и слиться с плазматической мембраной яйцеклетки (см. ниже). В экспериментах *in vitro* очищенный ZP3 способен стимулировать акросомальную реакцию, возможно, активируя лектин-подобный рецептор на поверхности сперматозоида. Считают, что этот рецептор представляет собой трансмембранную форму галактозилтрансферазы. Активация рецептора ведет к повышению концентрации Ca^{2+} в цитоплазме сперматозоида, что инициирует экзоцитоз.

21.6.3. Механизм слияния сперматозоида с яйцеклеткой еще неизвестен

Произведя акросомальную реакцию и преодолев *zona pellucida*, сперматозоид связывается с плазматической мембраной, покрывающей кончики микроворсинок на поверхности яйцеклетки (см. рис. 21.32). Сперматозоид сначала связывается с кончиком микроворсинки, а затем с ее боковой поверхностью (см. рис. 21.33). Тогда соседние микроворсинки быстро удлиняются и удерживают сперматозоид, что облегчает ему слияние с яйцеклеткой. После слияния все содержимое сперматозоида оказывается внутри яйцеклетки, а микроворсинки исчезают.

Молекулярные механизмы, ответственные за связывание яйцеклетки и спермия и за их слияние, почти не изучены. Однако после серии предположений, оказавшихся ошибочными, все-таки удалось идентифицировать два мембранных белка, требующихся для слияния. Один из них представляет собой свойственный лишь

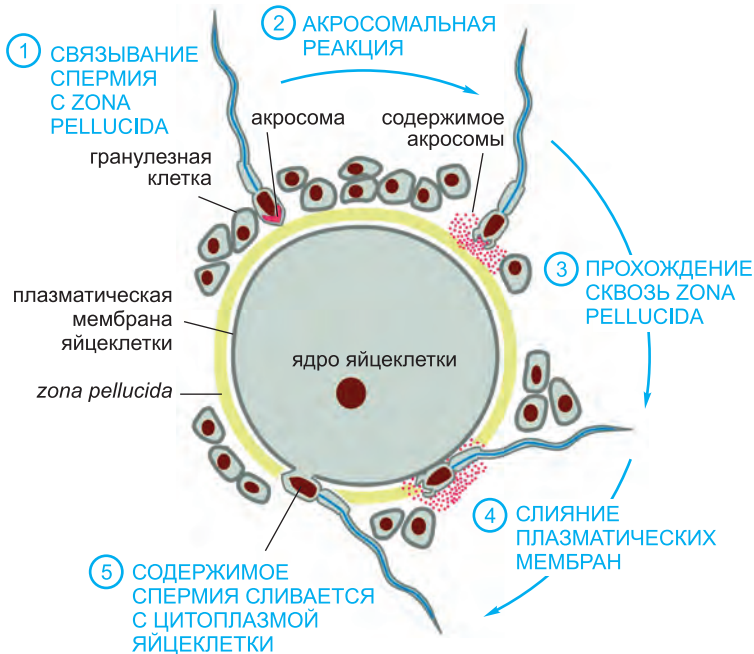


Рис. 21.33. Акросомальная реакция, происходящая при оплодотворении. У мышей *zona pellucida* имеет около 6 мкм в толщину; сперматозоид проходит сквозь нее со скоростью примерно 1 мкм/мин.

сперматозоиду трансмембранный белок из суперсемейства иммуноглобулинов под названием *Идзумо* (*Izumo*; так называется японское святилище, в котором часто совершаются брачные церемонии). Он появляется на поверхности мышиноного и человеческого сперматозоида в ходе акросомальной реакции. Антитела к Идзумо блокируют слияние, а сперматозоиды самца мыши, не вырабатывающего Идзумо, не могут слиться с нормальной яйцеклеткой. Тем не менее роль Идзумо в слиянии сперматозоида с яйцеклеткой не ясна. На поверхности яйцеклетки обнаружен лишь один белок, необходимый для слияния со сперматозоидом: это белок *CD9*, принадлежащий к семейству *тетраспанинов*, названных так потому, что у них есть четыре трансмембранных домена. Нормальному сперматозоиду не удается связаться с мышинными яйцеклетками, на поверхности которых нет *CD9*; вероятно, *CD9* принимает какое-то участие в слиянии гамет, но какое именно, пока не известно. Кроме того, показано, что нормальные сперматозоиды также не связываются с яйцеклетками, обработанными специальным ферментом, который удаляет белки, связанные с мембраной посредством гликозилфосфатидилинозитольного (GPI) якоря (см. главу 10). Это означает, что один или несколько белков, прикрепленных к мембране с помощью GPI, тоже необходимы для слияния, однако соответствующий белок (или белки) еще не идентифицирован.

21.6.4. Слияние со сперматозоидом активирует яйцеклетку, повышая концентрацию Ca^{2+} в цитоплазме

Слияние со сперматозоидом активирует яйцеклетку, при этом кортикальные гранулы выплескивают свое содержимое наружу посредством экзоцитоза: этот

процесс называется *кортикальной реакцией*. Мейоз, остановленный на стадии метафазы II, возобновляется, в результате чего образуется второе полярное тельце и зигота, которая начинает свое развитие.

Все эти события инициируются повышением концентрации Ca^{2+} в цитоплазме. Если концентрацию Ca^{2+} в цитоплазме неоплодотворенной клетки повысить искусственно, напрямую вводя Ca^{2+} либо используя кальциевый ионофор (см. главу 11), то яйцеклетка активируется. Это работает у всех исследованных на данный момент животных, в том числе млекопитающих. И наоборот: если не позволять концентрации Ca^{2+} расти, например, вводя хелатор Ca^{2+} +EGTA, то это ингибирует активацию яйцеклетки в ответ на оплодотворение.

Когда сперматозоид, как обычно, сливается с плазматической мембраной клетки, он стимулирует локальное увеличение концентрации цитоплазматического Ca^{2+} , которое волной распространяется по клетке (см. рис. 15.40). Распространение волны обеспечивается механизмом положительной обратной связи: повышение концентрации цитоплазматического Ca^{2+} открывает кальциевые каналы, благодаря чему еще больше кальция поступает в цитоплазму. Вслед за начальной кальциевой волной обычно начинаются колебания концентрации кальция (см. главу 15), которые могут длиться несколько часов.

Вероятно, при слиянии со сперматозоидом в яйцеклетку поступает некий внешний фактор, запускающий кальциевую волну и последующие осцилляции. Введение интактного сперматозоида, его головки или его внутреннего содержимого производит один и тот же эффект. Все эти воздействия повышают концентрацию инозитол-1,4,5-трифосфата (IP_3), который способствует выходу Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума и инициирует кальциевую волну и осцилляции (см. главу 15). Наиболее вероятным претендентом на роль фактора, вносящего в яйцеклетку сперматозоид млекопитающего, является особая форма фосфолипазы C ($\text{PLC}\zeta$), встречающаяся в сперматозоидах. Этот фермент расщепляет фосфоинозитол-4,5-бисфосфат ($\text{PI}(4,5)\text{P}_2$) с образованием IP_3 и диацилглицерола (см. рис. 15.39).

21.6.5. Кортикальная реакция помогает избежать полиспермии

Хотя с яйцеклеткой могут связаться несколько сперматозоидов, в норме лишь один сливается с плазматической мембраной яйцеклетки и впрыскивает свою цитоплазму, ядро и другие компоненты внутрь яйцеклетки. Если же происходит слияние более чем с одним сперматозоидом (такое состояние называется *полиспермией*), то формируется веретено деления с множественными полюсами, что приводит к некорректному расхождению хромосом в течение первых митотических делений. При этом формируются анеуплоидные клетки и развитие, как правило, прекращается.

Слияние лишь с одним сперматозоидом обеспечивается двумя механизмами. Во-первых, изменения плазматической мембраны яйцеклетки, вызванные слиянием с первым сперматозоидом, не позволяют другим сперматозоидам слиться с нею. Второй механизм заключается в запуске **кортикальной реакции** яйцеклетки, при которой высвобождаются различные ферменты, изменяющие структуру *zona pellucida* таким образом, что другие сперматозоиды не могут ни связаться с ней, ни тем более пройти сквозь нее. В ходе этой реакции у млекопитающих инактивируется ZP3, который отныне не может связаться со сперматозоидом и активировать его акросомную реакцию. Кроме того, расщепляется ZP2, что каким-то образом делает *zona pellucida* непроницаемой (рис. 21.34).

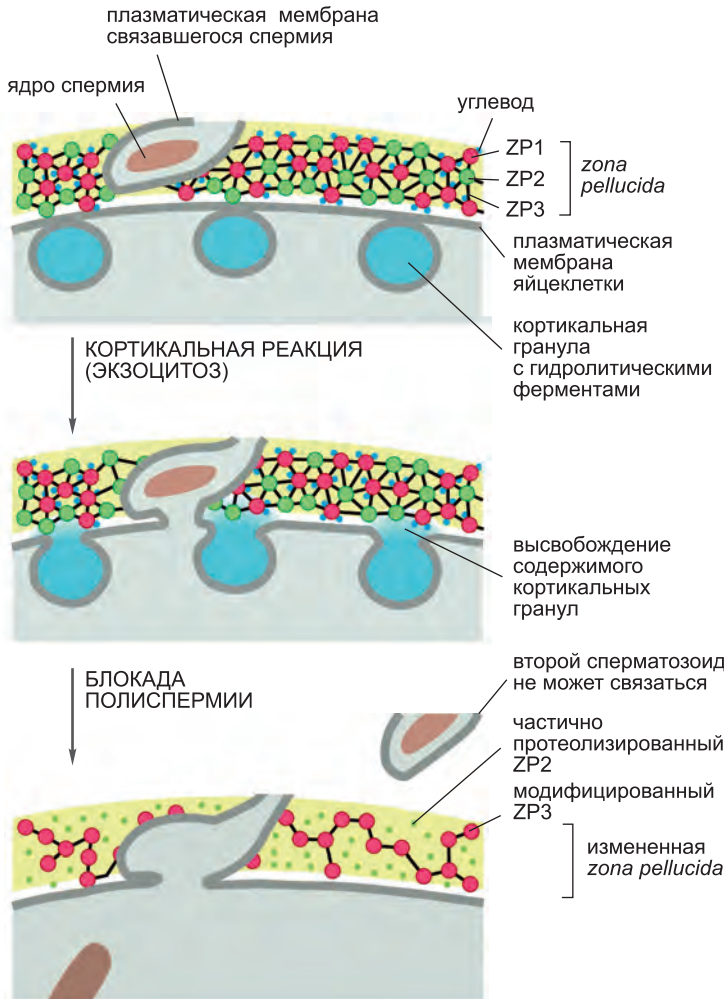


Рис. 21.34. Схема поясняет, как, по современным представлениям, кортикальная реакция яйцеклетки мыши предотвращает проникновение в нее дополнительных спермиев. Вышедшее наружу содержимое кортикальных гранул переводит ZP3 в инактивированную форму, с которой сперматозоид не может связаться. При этом также разрезается ZP2, что приводит к полной непроницаемости *zona pellucida* для спермиев. Эти изменения делают полиспермию невозможной.

21.6.6. Вместе со своей генетической информацией сперматозоид вносит в яйцеклетку центриоли

Оплодотворенная яйцеклетка носит название **зиготы**. Однако оплодотворение не завершено, пока два гаплоидных ядра (называемых *пронуклеусами*) — одно от яйцеклетки, другое от сперматозоида — не сольются в единое диплоидное ядро. У млекопитающих в оплодотворенной яйцеклетке два ядра не могут сразу слиться, как это случается у многих других животных. Они приближаются друг к другу, но остаются разделенными до тех пор, пока мембрана каждого пронуклеуса не будет разрушена при подготовке зиготы к первому митотическому делению (**рис. 21.35**).

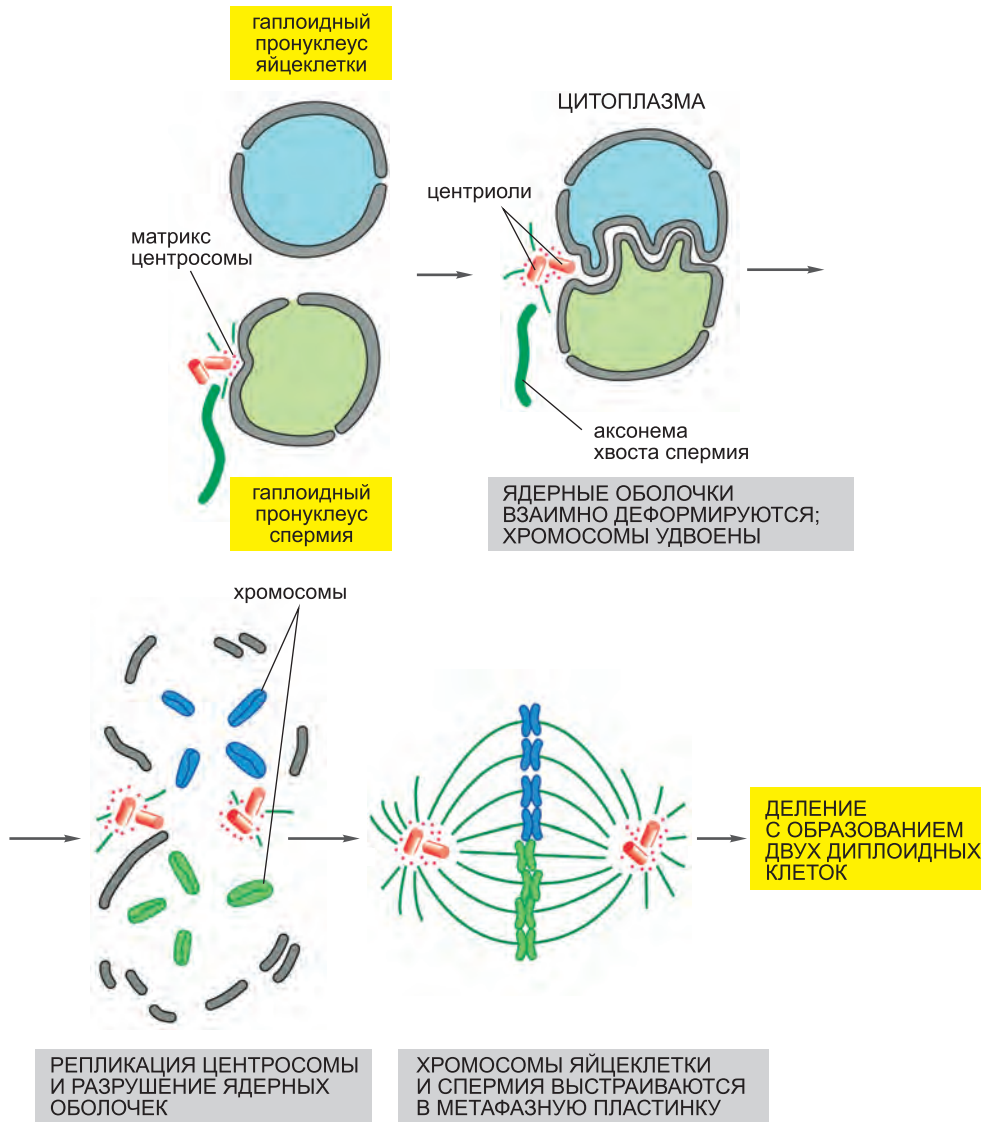


Рис. 21.35. Слияние пронуклеусов сперматозоида и яйцеклетки млекопитающих после оплодотворения. Пронуклеусы сходятся к центру яйцеклетки, и их ядерные оболочки взаимно деформируются. Центросома удваивается, ядерные оболочки разрушаются, хромосомы встраиваются в митотическое веретено, и зигота начинает свое первое деление. (По рисункам и электронным микрофотографиям Daniel Szöllösi.)

У большинства видов животных, в том числе у человека, сперматозоид вносит в яйцеклетку не только свою генетическую информацию. Он также является донором центриоли — структуры, отсутствующей у неоплодотворенной яйцеклетки. Центриоли сперматозоида входят в яйцеклетку вместе с его ядром и хвостовой частью, и вокруг них образуется центросома. У человека центросома удваивается, и две образовавшиеся центросомы участвуют в сборке первого веретена деления зиготы (рис. 21.36, см. также рис. 21.35). Это объясняет, почему полиспермия, при

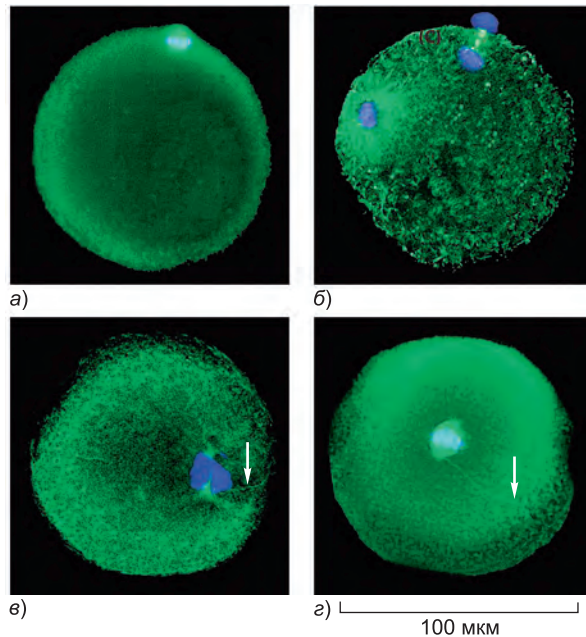


Рис. 21.36. На этих микрофотографиях показано сближение пронуклеусов яйцеклетки и сперматозоида человека после оплодотворения *in vitro*. Микрофотографии выполнены с использованием метода иммунофлуоресценции. Микротрубочки веретена окрашены зеленым с помощью антител к тубулину, ДНК — синим, с помощью специфического красителя на ДНК. *а)* Мейотическое веретено зрелого неоплодотворенного вторичного ооцита. *б)* Оплодотворенная яйцеклетка, от которой отделяется второе полярное тельце, спустя 5 часов после слияния со сперматозоидом. Вокруг головки сперматозоида (слева) собираются микротрубочки. Пронуклеусы яйцеклетки и сперматозоида еще находятся далеко друг от друга. *в)* Два пронуклеуса сошлись. *з)* Через 16 часов после слияния пронуклеусов: centrosома, проникшая в яйцеклетку вместе со сперматозоидом, удвоилась, и дочерние centrosомы образовали bipolarное митотическое веретено. Хромосомы обоих пронуклеусов выстроились в метафазную пластинку. Как отмечено стрелками на (*в*) и (*з*), хвост сперматозоида все еще связан с одной из centrosом. (Из С. Simerly et al., *Nat. Med.* 1: 47–53, 1995. С разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

которой несколько сперматозоидов вносят свои центриоли в яйцеклетку, приводит к образованию митотического веретена с множественными полюсами.

21.6.7. Методы ЭКО (IVF) и ИКСИ (ICSI) произвели революцию в лечении бесплодия у человека

Примерно 10% пар страдают пониженной фертильностью; случается, что женщина не может забеременеть, даже если партнеры ведут половую жизнь уже 12–18 месяцев, не предохраняясь. Примерно в половине этих случаев проблема состоит в мужчине, в половине случаев — в женщине. Хотя пониженная фертильность у мужчин и у женщин может быть вызвана самыми разными причинами, в подавляющем большинстве случаев проблема решается с помощью той или иной вспомогательной репродуктивной технологии.

Первый заметный прорыв в преодолении бесплодия произошел в 1978 году, когда родилась Луиза Браун (Louise Brown), первый ребенок, появившийся на свет в результате **экстракорпорального оплодотворения (*in vitro* fertilization, IVF)**.

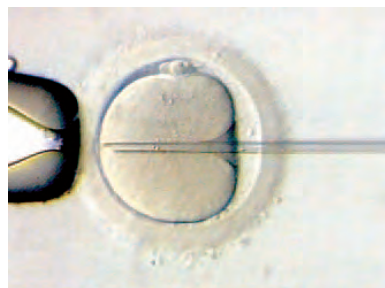
До этого велись жаркие споры об этичности и безопасности ЭКО — аналогичные споры теперь ведутся относительно производства и использования человеческих эмбриональных стволовых клеток (embryonic stem cells, ES cells). Теперь ЭКО является рутинной процедурой, в результате которой родилось более миллиона детей. Сначала женщину подвергают воздействию гормонов, которые стимулируют одновременное созревание многих ооцитов. Непосредственно перед овуляцией яйцеклетки изымают из яичника (для этого используется длинная игла, вводимая через влагалище) и в чашке для культивирования оплодотворяют мужской спермой. После нескольких суток инкубации в культуре два или три лучших на вид эмбриона имплантируют с помощью катетера в матку женщины; оставшиеся зародыши, если необходимо, замораживают для последующих имплантаций. Основная проблема ЭКО — частые множественные беременности, которые случаются более чем в 30% случаев, в то время как при естественной беременности это происходит с частотой 2%.

Процедура ЭКО позволила многим бесплодным женщинам выносить и родить нормального ребенка. Однако она не может решить проблему мужского бесплодия, при котором мужчина вырабатывает слишком мало сперматозоидов, либо его сперматозоиды аномальны. Второй прорыв, произошедший в 1992 году, разрешил проблему бесплодия для большинства мужчин, страдающих этим недостатком. В этой разновидности ЭКО, носящей название **внутрицитоплазматической инъекции сперматозоида**, или **ИКСИ (intracytoplasmic sperm injection, ICSI)**, яйцеклетка оплодотворяется непосредственным введением в нее сперматозоида (рис. 21.37). При таком способе оплодотворения отпадает потребность в большом количестве подвижных сперматозоидов; кроме того, не нужно проходить все стадии подготовки к оплодотворению: капацитацию, продвижение к яйцеклетке, акросомальную реакцию, преодоление *zona pellucida* и слияние с плазматической мембраной яйцеклетки. Процедура ИКСИ дает успешный результат в 50% случаев; благодаря ей на свет появились уже 100 000 младенцев.

Помимо того что метод ЭКО произвел переворот в преодолении бесплодия, он открыл новые возможности управления репродуктивным процессом. Например, если родители являются носителями дефектного гена, то скрининг эмбрионов, используемых при ЭКО, производимый перед имплантацией в матку, позволяет избежать передачи дефектного гена ребенку.

Как обсуждалось выше, приемы обращения с яйцеклеткой *in vitro* сделали возможным выработку клонов многих млекопитающих путем перенесения ядра соматической клетки клонируемого животного в неоплодотворенную яйцеклетку, ядро которой было удалено или разрушено. Это непростая процедура; ее эффективность мала, и пока что неясно, можно ли таким образом клонировать человека.

Более того, сейчас остро стоит этический вопрос о том, имеем ли мы право пытаться клонировать человека. На сегодняшний день стороны сходятся



50 мкм

Рис. 21.37. Внутрицитоплазматическая инъекция сперматозоида. Фотография со светового микроскопа. Вторичный ооцит человека удерживается с помощью присасывающей пипетки (слева); в него с помощью стеклянной иглы вводится один человеческий сперматозоид. *Zona pellucida* окружает яйцеклетку и полярное тельце. (С любезного разрешения Reproductive Biology Associates, Atlanta, Georgia.)

на том, что нельзя делать попыток клонирования, используя существующую несовершенную технологию, поскольку при этом высока вероятность появления на свет ребенка с нарушениями. Тем не менее во многих странах и штатах США такие несанкционированные попытки были сделаны.

Однако *репродуктивное клонирование* не следует путать с *терапевтическим клонированием*, при котором получаемый *in vitro* эмбрион не имплантируется в матку для получения новой особи, а используется для производства эмбриональных стволовых клеток, генетически идентичных донору соматического ядра (рис. 21.38). Различные типы специализированных клеток, полученные из таких «персонализированных» эмбриональных стволовых клеток, затем можно использовать для лечения донора. При этом не возникает проблем с иммунологическим отторжением, которое часто происходит при использовании эмбриональных ство-

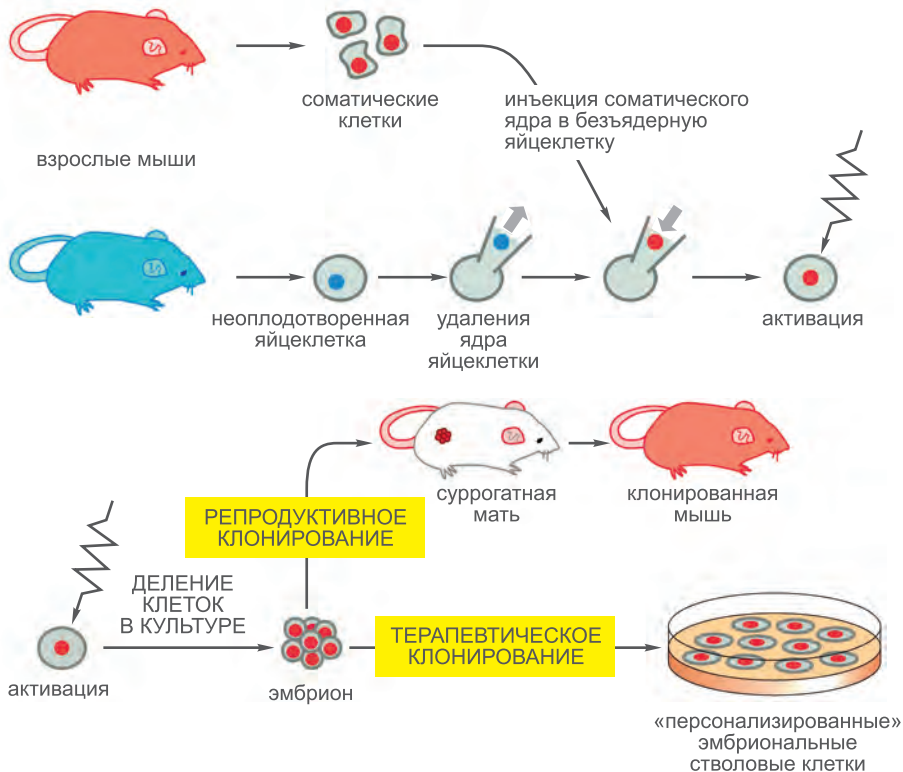


Рис. 21.38. Различие между репродуктивным клонированием и приготовлением «персональных» эмбриональных стволовых клеток. В обоих случаях сначала получают эмбрион, выращенный из яйцеклетки, ядро которой удаляют (или разрушают) и заменяют ядром соматической клетки клонируемого животного. Реконструированную таким образом яйцеклетку активируют электрическим импульсом, после чего она начинает делиться. При *репродуктивном клонировании* эмбрион имплантируется в матку суррогатной матери, в утробе которой и развивается клонированное животное. При изготовлении эмбриональных стволовых клеток (иногда этот метод называют *терапевтическим клонированием*) эмбрион используют для получения культуры стволовых клеток. Затем эти клетки могут быть превращены в специализированные клетки и использованы для лечения пациента, который был донором ядра для эмбриона. Поскольку специализированные клетки, выращенные из этих стволовых клеток, генетически идентичны клеткам донора, иммунологического отторжения не происходит.

ловых клеток, генетически отличающихся от клеток пациента. Несомненно, обществу предстоит решить трудный вопрос о том, насколько далеко мы имеем право зайти при использовании этих методов управления репродуктивным процессом ради возможной пользы. С другой стороны, не исключено, что в будущем при производстве «персонализированных» эмбриональных стволовых клеток можно будет вообще избежать этических проблем. Например, в недавних экспериментах показано, что методами генной инженерии можно заставить культивируемые фибробласты мыши вырабатывать несколько белков-регуляторов генной экспрессии, свойственных эмбриональным стволовым клеткам; при одновременной выработке этих белков фибробласты в некоторых отношениях ведут себя подобно эмбриональным стволовым клеткам¹.

Оплодотворение является первым этапом процесса, имеющего фундаментальное значение во всех областях биологии, а именно эмбриогенеза, при котором зигота развивается в целую особь. Это будет предметом обсуждения в следующей главе.

Заключение

У млекопитающих оплодотворение обычно начинается с того, что сперматозоид, прошедший капацитацию в женских половых путях, связывается с зона pellucida, окружающей яйцеклетку в яйцеводе. Связывание стимулирует акросомальную реакцию, в результате которой акросома сперматозоида выплещивает свое содержимое наружу. Предполагают, что это помогает сперматозоиду пройти сквозь зона pellucida. Акросомная реакция также необходима для связывания и последующего слияния сперматозоида с плазматической мембраной яйцеклетки. Слияние сперматозоида с яйцеклеткой запускает волну, а затем колебания концентрации Ca^{2+} в цитоплазме яйцеклетки, в результате чего она активизируется. При активации происходит кортикальная реакция, когда кортикальные гранулы высвобождают свое содержимое, тем самым изменяя свойства зона pellucida таким образом, что сперматозоид больше не может связаться с ней или пройти сквозь нее. Кальциевый сигнал также запускает развитие зиготы, которое начинается после того, как два гаплоидных пронуклеуса сольются и их хромосомы выстроятся по экватору единого веретена деления. После этого происходит первое митотическое деление зиготы. Многие бесплодные пары, в прошлом не имевшие возможности иметь детей, теперь могут сделать это благодаря ЭКО и ИКСИ.

Литература

Общая

Austin C. R. and Short R. V. eds. (1984) *Reproduction in Mammals Vol I Germ Cells and Fertilization* 2nd ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Gilbert S. F. (2006) *Developmental Biology* 8th ed. pp. 175–210, 529–554, 593–626. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.

¹ Из соматических клеток млекопитающих можно получить так называемые индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК). В соматические клетки вводят гены транскрипционных факторов плюрипотентности (Oct4, Sox2, Klf, c-Myc). За разработку этой технологии японскому ученому Шинья Яманака в 2012 году присуждена Нобелевская премия. — *Прим. ред.*

Половое размножение

Cavalier-Smith T. (2002) Origins of the machinery of recombination and sex. *Heredity* 88: 125–41.

Charlesworth B. (2006) The evolutionary biology of sex. *Curr. Biol.* 16: R693–R695.

Hoekstra R. F. (2005) Evolutionary biology: why sex is good. *Nature* 434: 571–573.

Maynard Smith J. (1978) *Evolution of Sex*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

Мейоз

Blat Y., Protacio R. U., Hunter N. and Kleckner N. (2002) Physical and functional interactions among basic chromosome organizational features govern early steps of meiotic chiasma formation. *Cell* 111: 791–802.

Burner G. V., Kleckner N. and Hunter N. (2004) Crossover/noncrossover differentiation, synaptonemal complex formation and regulatory surveillance at the leptotene/zygotene transition of meiosis. *Cell* 117: 29–45.

De Massy B. (2003) Distribution of meiotic recombination sites. *Trends Genet.* 19: 514–522.

Gerton J. L. and Hawley R. S. (2005) Homologous chromosome interactions in meiosis: diversity amidst conservation. *Nature Rev. Genet.* 6: 477–487.

Hall H., Hunt P. and Hassold T. (2006) Meiosis and sex chromosome aneuploidy: how meiotic errors cause aneuploidy; how aneuploidy causes meiotic errors. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 16: 323–329.

Hauf S. and Watanabe Y. (2004) Kinetochore orientation in mitosis and meiosis. *Cell* 119: 317–327.

Hunt P. A. and Hassold T. J. (2002) Sex matters in meiosis. *Science* 296: 2181–2183.

Jordan P. (2006) Initiation of homologous chromosome pairing during meiosis. *Biochem. Soc. Trans.* 34: 545–549.

Nasmyth K. (2001) Disseminating the genome: joining, resolving, and separating sister chromatids during mitosis and meiosis. *Annu. Rev. Genet.* 35: 673–745.

Page S. L. and Hawley R. S. (2004) The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20: 525–558.

Petronczki M., Siomos M. F. and Nasmyth K. (2003) Un menage a quatre: the molecular biology of chromosome segregation in meiosis. *Cell* 112: 423–440.

Первичные половые клетки и определение пола у млекопитающих

Bowles J., Knight D., Smith C. et al. (2006) Retinoid signaling determines germ cell fate in mice. *Science* 312: 596–600.

Extavour C. G. and Akam M. (2003) Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation. *Development* 130: 5869–5884.

Goodfellow P. N. and Lovell-Badge R. (1993) SRY and sex determination in mammals. *Annu. Rev. Genet.* 27: 71–92.

Knower K. C., Kelly S. and Harley V. R. (2003) Turning on the male—SRY, SOX9 and sex determination in mammals. *Cytogenet. Genome Res.* 101: 185–198.

McLaren A. (2003) Primordial germ cells in the mouse. *Dev. Biol.* 262: 1–15.

Morrish B. C. and Sinclair A. H. (2002) Vertebrate sex determination: many means to an end. *Reproduction* 124: 447–457.

Surani M. A., Ancelin K., Hajkova P. et al. (2004) Mechanism of mouse germ cell specification: a genetic program regulating epigenetic reprogramming. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 69: 1–9.

Tilmann C. and Capel B. (2002) Cellular and molecular pathways regulating mammalian sex determination. *Recent. Prog. Horm. Res.* 57: 1–18.

Яйцеклетки

Gosden R. G. (2002) Oogenesis as a foundation for embryogenesis. *Mol. Cell Endocrinol.* 186:149–186:153.

Matzuk M. M., Burns K. H., Viveiros M. M. and Eppig J. J. (2002) Intercellular communication in the mammalian ovary: oocytes carry the conversation. *Science* 296: 2178–2180.

Tanghe S., Van Soom A., Nauwynck H. et al. (2002) Minireview: Functions of the cumulus oophorus during oocyte maturation, ovulation, and fertilization. *Mol. Reprod. Dev.* 61: 414–424.

Wassarman P. M., Jovine L. and Litscher E. S. (2004) Mouse zona pellucida genes and glycoproteins. *Cytogenet. Genome Res.* 105: 228–234.

Спермий

Clermont Y. (1972) Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol. Rev.* 52: 198–236.

Moreno R. D. and Alvarado C. P. (2006) The mammalian acrosome as a secretory lysosome: new and old evidence. *Mol. Reprod. Dev.* 73: 1430–1434.

Ogawa T., Ohmura M. and Ohbo K. (2005) The niche for spermatogonial stem cells in the mammalian testis. *Int. J. Hematol.* 82: 381–388.

Toshimori K. (2003) Biology of spermatozoa maturation: an overview with an introduction to this issue. *Microsc. Res. Tech.* 61: 1–6.

Оплодотворение

De Jonge C. (2005) Biological basis for human capacitation. *Hum. Reprod. Update* 11: 205–214.

Hafez E. S., Goff L. and Hafez B. (2004) Mammalian fertilization, IVF, ICSI: physiological/molecular parameters, clinical application. *Arch. Androl.* 50: 69–88.

Jaenisch R. (2004) Human Cloning—The Science and Ethics of Nuclear Transplantation. *N. Eng. J. Med.* 351: 2787–2791.

Shur B. D., Rodeheffer C. and Ensslin M. A. (2004) Mammalian fertilization. *Curr. Biol.* 14: R691–692.

Stein K. K., Primakoff P. and Myles D. (2004) Sperm-egg fusion: events at the plasma membrane. *J. Cell Sci.* 117: 6269–6274.

Takahashi K. and Yamanaka S. (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126: 663–676.

Tsaadon A., Eliyahu E., Shtraizent N. and Shalgi R. (2006) When a sperm meets an egg: block to polyspermy. *Mol. Cell Endocrinol.* 252: 107–114.

Wassarman P. M. (2005) Contribution of mouse egg zona pellucida glycoproteins to gamete recognition during fertilization. *J. Cell Physiol.* 204: 388–391.

Whitaker M. (2006) Calcium at fertilization and in early development. *Physiol. Rev.* 86: 25–88.

Развитие многоклеточных организмов

Каждое животное или растение начинает свою жизнь с одной-единственной клетки — оплодотворенного яйца, или яйцеклетки. В ходе развития эта клетка многократно делится и производит целое множество различных клеток, являемых нам в совершенном образе удивительной красоты, невероятной сложности и потрясающей точности. В конечном счете именно геном рождает этот образ, и задача биологии развития — понять, как это происходит.

В целом геном идентичен во всех клетках, и клетки отличаются друг от друга вовсе не тем, что они содержат разную генетическую информацию, а тем, что они экспрессируют разные наборы генов. Такая избирательная экспрессия генов обуславливает четыре жизненно важных процесса, посредством которых строится зародыш: 1) *пролиферацию клеток*, дающую множество клеток из одной, 2) *специализацию клеток*, создающую клетки, обладающие разными характеристиками и занимающие разные позиции в организме, 3) *взаимодействия клеток*, согласующие поведение одной клетки с действиями ее соседей, и 4) *перемещение клеток*, в ходе которого клетки перестраиваются из одних положений в другие и формируют обладающие определенной структурой ткани и органы (рис. 22.1).

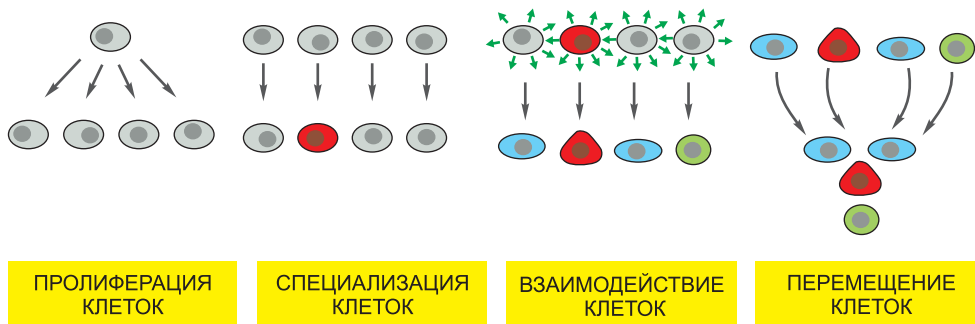


Рис. 22.1. Четыре важнейших процесса, посредством которых формируется многоклеточный организм: разрастание клеток, специализация клеток, взаимодействие клеток и перемещение клеток.

В развивающемся зародыше все эти процессы происходят одновременно, в «калейдоскопическом» многообразии различных путей, пролегающих в различных частях организма. Сфокусируем внимание на основных стратегиях развития. В частности, нам предстоит понять курс вершащихся событий с точки зрения отдельно взятой клетки и образа действия генома в ее пределах. Никакой военачальник не руководит гранди-

озными маневрами клеток, не направляет их отряды в то или иное место; каждой из миллионов клеток зародыша приходится самостоятельно принимать решения, руководствуясь своей собственной копией генетических инструкций и сообразуясь с конкретными обстоятельствами, в которых она находится в данный момент времени.

Сложность животных и растений зависит от замечательной особенности генетической системы управления. Клетки наделены памятью: состав набора экспрессируемых клеткой генов и манера ее поведения столь же зависят от прошлого этой клетки, сколь и от окружающей ее сиюминутной обстановки. Клетки нашего тела — мышечные клетки, нейроны, клетки кожи, кишечника и так далее — сохраняют свои приобретенные в результате специализации особенности не потому, что они непрестанно получают одни и те же инструкции из окружающей их среды, а потому, что хранят в себе запись сигналов, принятых их предками на ранней стадии развития зародыша. Молекулярные механизмы памяти клетки представлены в главе 7. В этой главе мы разберем ее проявления.

22.1. Универсальные механизмы развития животных

На Земле существует около десяти миллионов видов животных, и они фантастически разнообразны. Мысль о том, что жалкий червяк, юркая блоха, гордый орел и гигантский морской кальмар могут быть произведены на свет одними и теми же механизмами развития, кажется столь же нелепой, как уверения изобретателя-конструктора в том, что он сможет изготовить на придуманном им станке башмак и самолет. Возможно, между ними и можно узреть некое подобие в некоторых абстрактных принципах, но не в одинаковых же специфических молекулах?

Одним из самых удивительных за последние 10 или 20 лет стало открытие того факта, что зародившиеся с первого взгляда сомнения в нашей душе неверны. На самом деле в основе своей основные механизмы развития существенно схожи, и не только у всех позвоночных животных, но также и среди всех главных типов беспозвоночных. Узнаваемо подобные, родственные в эволюционном отношении молекулы определяют специализированные типы наших клеток, отмечают различия между частями тела и помогают создавать весь организм в целом. Зачастую гомологичные белки оказываются функционально взаимозаменяемыми между представителями сильно разнящихся видов. Белок мышцы, искусственно выработанный в мухе, нередко может выполнять ту же самую функцию, что и собственная мушиная версия этого белка, и, скажем, успешно управлять развитием глаза или построением мозга (**рис. 22.2**). И наоборот, белки мухи пригодны для выполнения многих функций в организме мыши. Как мы увидим позже, благодаря такому внутреннему единству механизмов ученые, изучающие биологию развития, продвигаются по пути к выстраиванию целостной картины развития организма многоклеточного животного.

Растения — отдельное царство: они достигли своей многоклеточной организации независимо от животных. И хотя точно так же можно нарисовать единую картину их развития, она будет отличаться от иллюстрации развития животных. Животные послужат главной темой, рассмотренной в этой главе, однако мы вернемся к растениям в ее конце.

Итак, мы начинаем с набросков некоторых основных общих принципов развития животных и краткого описания семи видов животных, принятых в биологии развития в качестве главных модельных организмов.

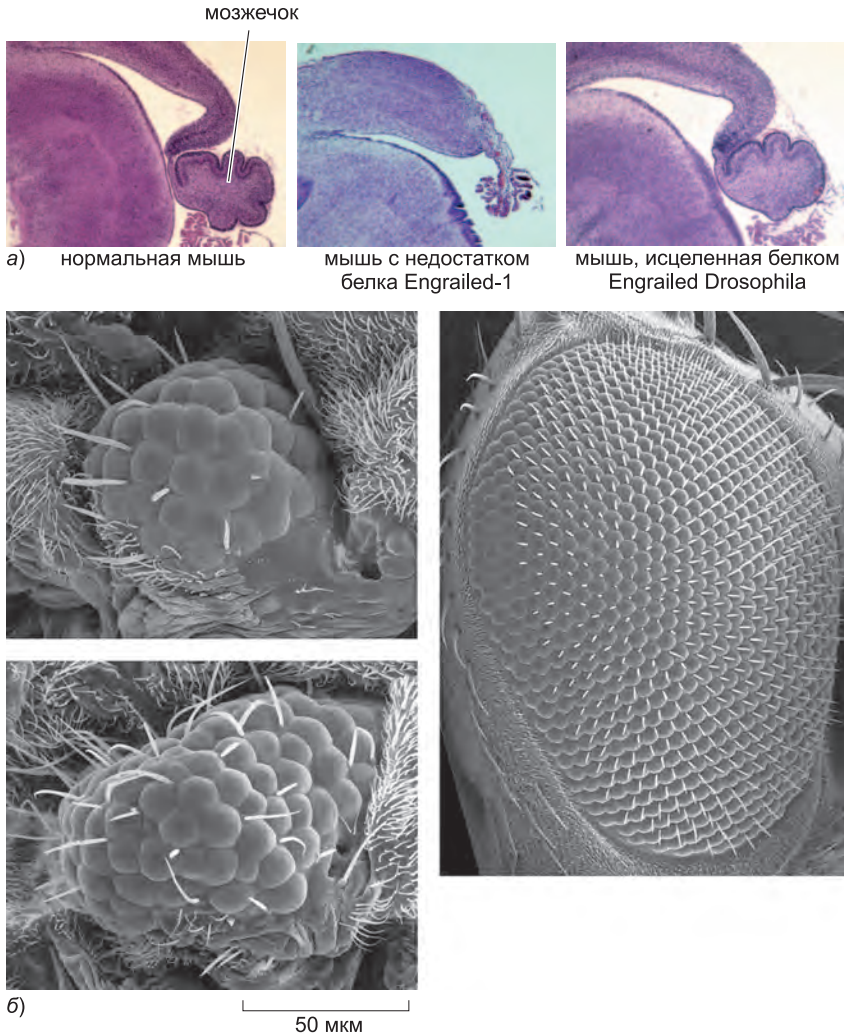


Рис. 22.2. Гомологичные белки, взаимозаменяемые в ходе развития мышей и мух.

а) Белок мухи, используемый в мыши. Последовательность ДНК дрозофилы, кодирующая белок *Engrailed* (регулирующий гены белок), может заменить соответствующую последовательность мыши, кодирующую у нее белок *Engrailed-1*. Отсутствие белка *Engrailed-1* у мыши вызывает дефект в ее мозге (не в состоянии развиваться мозжечок); белок дрозофилы служит эффективным его заменителем, избавляя трансгенную мышь от такой аномалии.

б) Белок моллюска, используемый в мухе. Белок *Eyeless* управляет развитием глаза у дрозофилы и, когда неправильно экспрессируется, может обусловить развитие глаза в ненадлежащем участке тела, например, на лапке. Когда гомологичный белок *Pax6* от мыши, кальмара или практически любого животного, обладающего глазами, подобным образом аномально экспрессируется в трансгенной мухе, обнаруживается тот же эффект. На полученных с помощью растрового электронного микроскопа снимках показан участок глазной ткани на мушиной лапке, образовавшейся в результате неправильной экспрессии гена *Eyeless* дрозофилы (сверху) и *Pax6* кальмара (снизу). Для сравнения на изображении справа показан целый глаз нормальной дрозофилы при более слабом увеличении. (Изображение а заимствовано из М. С. Hanks et al., *Development* 125: 4521–4530, 1998. С разрешения The Company of Biologists; изображение б — из S. I. Tomarev et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 2421–2426, 1997. С разрешения Национальной академии наук и любезного дозволения Кевина Мозеса.)

22.1.1. Некоторые основные анатомические особенности, общие у всех животных

Подобия между животными разных видов, наблюдаемые в управляющих развитии генах, отражают развитие животных от некоего общего предка, в геноме которого эти гены уже имелись. Хотя мы и не знаем, на что был похож этот общий предок червей, моллюсков, насекомых, позвоночных и других сложных животных, клетки его, были дифференцированы на типы, многие из которых были бы узнаваемы для нас сейчас: например, эпидермальные клетки, формирующие защитный внешний слой, клетки кишечника для поглощения питательных веществ из проглоченной пищи, мышечные клетки для движения, нейроны и сенсорные клетки для управления движениями и контроля за ними. Его организм наверняка был организован следующим образом: снаружи покрыт слоем кожи, имеется рот для питания и кишечная трубка для вмещения и переработки пищи, в пространстве между внешним слоем кожи и внутренней кишечной трубкой располагаются мышечная, нервная и прочие ткани.

Эти особенности строения общи почти для всех животных, и они соответствуют общей основной анатомической схеме развития. Яйцеклетка — гигантское вместилище материалов — делится, или **дробится**, и дает начало многочисленным клеткам меньшего размера. Они связываются в одно целое и образуют эпителиальный слой, граничащий с внешней средой. Большая часть этого слоя остается снаружи и составляет **эктодерму** — предшественник эпидермиса и нервной системы. Часть этого слоя втягивается внутрь и формирует **энтодерму** — предшественник кишечника и его придатков, таких как легкие и печень. Еще одна группа клеток перемещается в пространство между эктодермой и энтодермой и формирует **мезодерму** — предшественник мышц, соединительных тканей и разных других составных частей организма. Такое преобразование простого шара или поллой сферы из клеток в структуру с кишкой называют **гастроуляцией** (от греческого слова, обозначающего живот), и в той или иной форме это почти универсальная особенность развития животного. На **рис. 22.3** данный процесс показан на примере морского ежа.

Эволюция хорошо поработала над молекулярными и анатомическими основами жизни, описываемыми в этой главе, и в конечном счете произвела великолепное многообразие современных видов. Но лежащая в его основе консервативность генов и механизмов означает, что изучение развития одного животного очень часто ведет к постижению общих закономерностей развития животных многих других типов. Благодаря этой замечательной особенности современные специалисты в области биологии развития, а также клеточные биологи позволяют себе роскошь адресовать самые фундаментальные вопросы тому животному, которое предлагает наилегчайший путь к ответу.

22.1.2. Многоклеточные животные наделены белками, опосредующими взаимодействие клеток и регуляцию генов

Секвенирование генома показывает степень молекулярного сходства между видами. Нематода *Caenorhabditis elegans*, муха *Drosophila melanogaster* и позвоночное *Homo sapiens* — первые три животных, для которых была получена полная последовательность генома. В генеалогическом древе эволюции животных они отстоят друг от друга очень далеко: линия, ведущая к позвоночным, как полагают, ответвилась от линии, идущей к нематодам, насекомым и моллюскам, более 600 миллионов лет назад. Тем не менее, когда 20 000 генов *C. elegans*, 14 000 генов

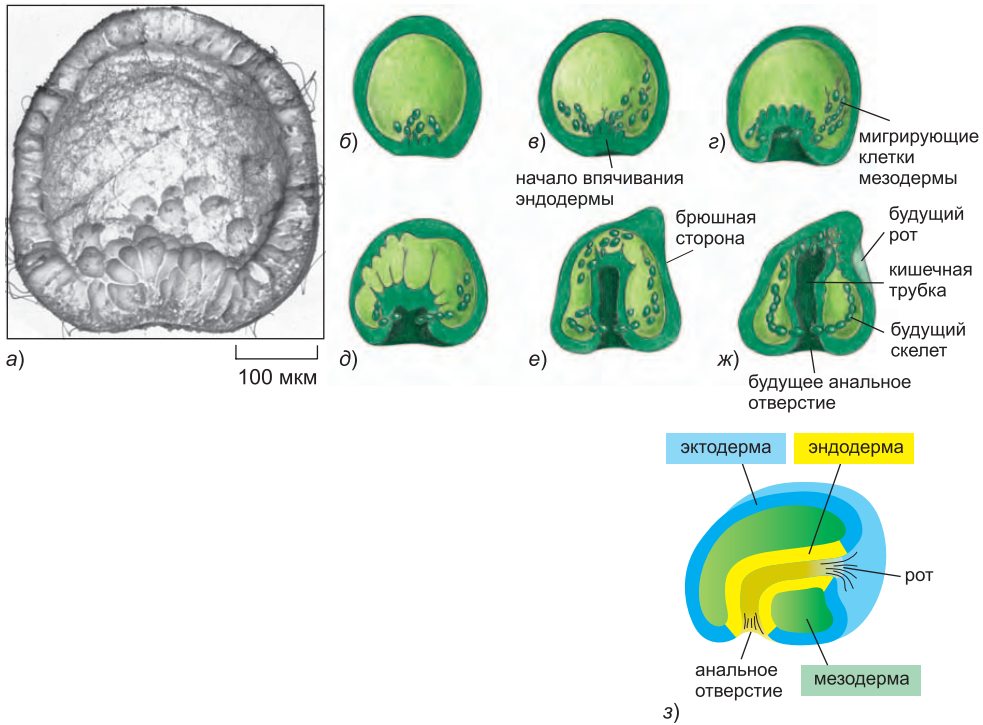


Рис. 22.3. Гастрюляция морского ежа. Оплодотворенная яйцеклетка делится и производит бластулу — полую сферу эпителиальных клеток, окружающих внутреннюю полость. Затем, в процессе гастрюляции, некоторые из клеток втягиваются внутрь и формируют кишечник и прочие внутренние ткани. *а)* Растровый микрофото- снимок, показывающий начальное втягивание эпителия. *б)* Показано, как группа клеток высвобождается из эпителия и закладывает мезодерму. *в)* Затем эти клетки расплзаются по внутренней поверхности стенки бластулы. *г)* Тем временем эпителий продолжает подворачиваться внутрь и превращаться в эндодерму. *д, е)* Впячивающаяся эндодерма вытягивается в длинную кишечную трубку. *ж)* Конец кишечной трубки упирается в стенку бластулы на участке будущего ротового отверстия. Здесь эктодерма и эндодерма соединятся и сформируется отверстие. *з)* Основное строение организма животного: снаружи слой эктодермы, внутри трубка эндодермы, а между ними — прослойка мезодермы. (Изображение *а* заимствовано из R. D. Burke et al., *Dev. Biol.* 146: 542–557, 1991. С разрешения издательства Academic Press; изображения *б–з* переработаны на основе L. Wolpert and T. Gustafson, *Endeavour* 26: 85–90, 1967. С позволения издательства Elsevier.)

дрозофилы и 25 000 генов человека систематически сравнили друг с другом, обнаружилось, что примерно 50% генов каждого из этих видов имеют явно узнаваемых гомологов у одного из других двух видов или даже у обоих из них. Другими словами, узнаваемые варианты по крайней мере 50% всех генов человека уже присутствовали в геноме общего предка червей, мух и человека.

Конечно, не все осталось неизменным: известны некоторые гены с ключевыми ролями в развитии позвоночных, которые не имеют ни одного гомолога в геноме *C. elegans* или дрозофилы, и наоборот. Однако немалая доля из тех 50% генов, которым не нашлось опознаваемых гомологов у животных из других отделов, может не иметь их просто потому, что их функции малозначимы. Хотя такие неконсервативные гены транскрибируются и хорошо представлены в библиотеках кДНК, исследования изменчивости последовательностей ДНК и аминокислот внутри природных популяций

и между ними показывают, что этим генам дана необычайная свобода мутирования без какой-либо серьезной утраты приспособленности организма. Когда такие гены искусственно инактивируются, последствия не настолько часто оказываются столь же пагубными, как в случае генов, имеющих гомологов у отдаленно родственных видов. Поскольку они свободны эволюционировать весьма быстро, нескольких десятков миллионов лет может быть достаточно, чтобы сгладить следы какого бы то ни было семейного сходства или допустить выпадение гомологов из генома.

Геномы животных разных классов отличаются также и по той причине, что, как описано в главе 1, имеют место значительные различия в масштабах дубликаций генов: интенсивность дублирования генов в эволюции позвоночных особенно велика, так что в итоге млекопитающее или рыба часто имеют сразу несколько гомологов, соответствующих отдельному гену червя или мухи.

Несмотря на такие различия, в первом приближении мы можем сказать, что все эти животные имеют в своем распоряжении сходные наборы белков для выполнения необходимых им функций. Иными словами, они строят свои тела, используя примерно один и тот же комплект молекулярных деталей.

Какие же гены в таком случае необходимы для создания многоклеточного животного, сверх тех, что нужны для жизни обособленной клетки? Сравнение геномов животных и почкующихся дрожжей — одноклеточных эукариот — показывает, что для многоклеточной организации особенно важны белки двух классов. Первый класс включает в себя трансмембранные молекулы, используемые для клеточной адгезии и передачи межклеточных сигналов. У *C. elegans* целых 2 000 генов кодируют белки-рецепторы клеточной поверхности, белки клеточной адгезии и белки ионных каналов, которые или вообще отсутствуют у дрожжей, или имеются в намного меньшем количестве. Второй класс включает белки, регулирующие экспрессию генов: эти связывающиеся с ДНК белки намного более многочисленны в протеоме у *C. elegans*, чем у дрожжей. Например, в семейство транскрипционных факторов, содержащих мотив оснужная (т.е. обогащенная лизином и аргинином) спираль—петля—спираль у *C. elegans* входит 41 член, у дрозофилы — 84, у человека — 131 и только 7 у дрожжей; что касается других семейств регуляторов экспрессии генов, то у животных они также представлены гораздо большим числом членов, чем у дрожжей. Не удивительно, что белки этих двух классов являются ключевыми для биологии развития: как мы увидим, развитие многоклеточных животных практически всецело предопределяется межклеточными взаимодействиями и дифференциальной экспрессией генов.

Как мы уже говорили в главе 7, микроРНК (miРНК) также играют существенную роль в управлении экспрессией генов в ходе развития, но они, кажется, имеют второстепенное значение по сравнению с белками. Так, зародыш рыбы *Danio rerio* с мутацией, из-за которой полностью отсутствует фермент Dicer, необходимый для создания функционально активных miРНК, все же начинает свое развитие почти обычным образом, создает специализированные типы клеток и показывает в целом правильный план строения организма, до тех пор, пока аномалии развития не становятся тяжелыми.

22.1.3. Программу развития организма предопределяет регуляторная ДНК

Червь, муха, моллюск и млекопитающее делят между собой многие из жизненно необходимых типов клеток, и все они действительно имеют рот, кишечник, нерв-

ную систему и кожу; но, за исключением нескольких таких основных особенностей строения организма, они сильно отличаются своей организацией. Если строение тела определяет геном и все эти животные имеют столь подобные подборки генов, то как же они могут быть настолько разными?

Кодируемые геномом белки можно рассматривать как детали конструктора. Из такого белкового конструктора можно построить многие вещи (точно так же, как из детского конструктора — грузовики, дома, мосты, подъемные краны и так далее), соединяя детали в различных комбинациях. Некоторые детали обязательно идут вместе — гайки с винтами, колеса с шинами и осями, — но крупномасштабная организация конечного объекта не зависит от этих базовых элементов конструкции. Скорее, она определяется инструкциями, прилагаемыми к деталям и предписывающими порядок их сборки.

Значительная часть инструкций, необходимых для создания многоклеточного животного, содержится в некодирующей, регуляторной ДНК, которая приписана к каждому гену. Как отмечено в главе 4, каждый ген, имеющийся в многоклеточном организме, связан с тысячами или десятками тысяч нуклеотидов некодирующей ДНК. Эта ДНК может содержать, в рассеянном по ней виде, десятки отдельных регуляторных элементов, или *энхансеров* — коротких сегментов ДНК, которые служат участками связывания для специфических комплексов регулирующих гены белков. Грубо говоря, как объясняется в главе 7, каждый регуляторный модуль такого рода обеспечивает экспрессию соответствующего гена каждый раз, когда белковый комплекс, опознающий этот сегмент ДНК, должным образом собирается в клетке (в некоторых случаях вместо этого экспрессия гена ингибируется или на нее оказывается более сложное воздействие). Если бы мы могли расшифровать полный набор регуляторных модулей, связанных с тем или иным геном, то мы бы поняли все различные молекулярные условия, при которых должен производиться продукт этого гена. Поэтому можно сказать, что такая регуляторная ДНК предопределяет последовательную программу развития: правила перехода из одного состояния в следующее, по мере того как клетки разрастаются и прочитывают свои положения в зародыше со ссылкой на окружающую их среду, при этом включают новые наборы генов согласно действию белков, которые они в настоящее время содержат (рис. 22.4). Конечно, в различия между видами вносят вклад также и отличия в самом роде свойственных им белков. Но даже если бы набор белков, закодированных в геноме, оставался совершенно неизменным, отличий в регуляторной ДНК было бы достаточно, чтобы производить сильно отличающиеся ткани и структуры организма.

Когда мы сравниваем виды животных с подобным общим строением тела, — например, разных позвоночных, таких как рыба, птица и млекопитающее, — мы находим, что взаимно соответствующие гены обычно имеют и подобные наборы регуляторных модулей: последовательности ДНК многих отдельно взятых модулей на протяжении эволюции оставались сильно консервативными и теперь, в геномах разных современных животных, узнаваемо гомологичны. То же самое верно, если мы сравниваем относящихся к разным видам червей нематод или же насекомых разных видов. Но, когда мы сравниваем регуляторные области позвоночных с таковыми червей или мух, трудно увидеть любое такое сходство. Кодирующие белок последовательности неукоснительно подобны, но соответствующие им последовательности регуляторной ДНК оказываются сильно отличающимися. Этот результат вполне ожидаем, если верно, что разные варианты строения тела обуславливаются

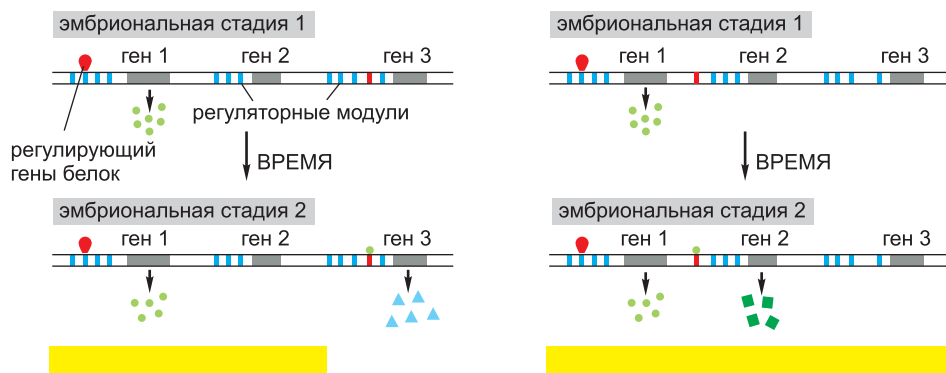


Рис. 22.4. Как регуляторная ДНК задает последовательность картин экспрессии генов в ходе развития. Геномы организмов А и В кодируют одинаковый набор белков, но имеют разную регуляторную ДНК. В нашей раскладке эти две клетки появляются в одном и том же состоянии и на 1-й стадии экспрессируют одни и те же белки, но из-за разного расположения регуляторных модулей на 2-й стадии переходят в сильно отличающиеся состояния.

главным образом изменениями программы, заложенной в регуляторную ДНК, при сохранении большей части универсального набора белков.

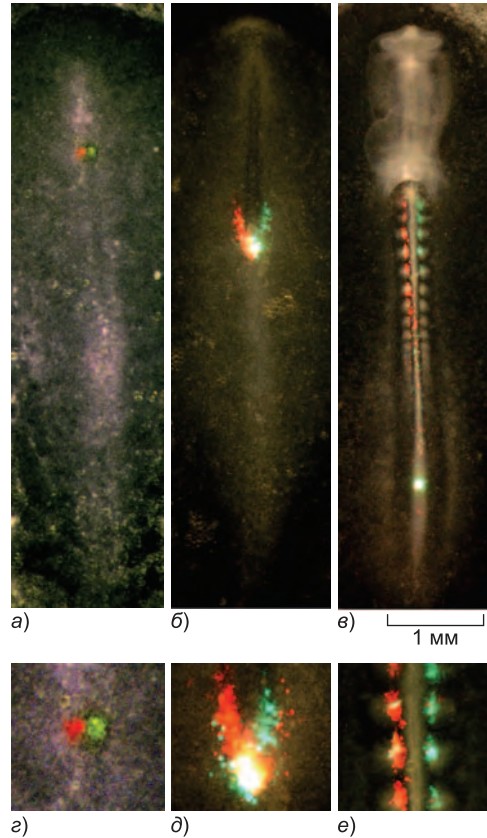
22.1.4. Манипуляции с зародышем раскрывают механизмы взаимодействия между его клетками

Каким образом на основании строения взрослого животного со всей его сложной организацией, можно начать анализ того процесса, благодаря которому оно возникло? Первым необходимым шагом будет описание анатомических изменений — схемы деления, роста и перемещения клеток, — посредством которых яйцеклетка преобразуется во взрослый организм. Это задача *описательной эмбриологии*, и она сложнее, чем можно думать. Чтобы объяснить развитие через поведение отдельно взятой клетки, нам нужно уметь отслеживать отдельные клетки на протяжении всех их делений, превращений и перемещений в зародыше. Основы описательной эмбриологии заложены в XIX веке, но тонкая задача *прослеживания последовательности клеточных поколений* и сейчас продолжает бросать вызов мастерству ученых (рис. 22.5).

Но, даже располагая таким описанием, возможно ли продвинуться дальше и открыть причинные механизмы? Традиционно в рамках *экспериментальной эмбриологии* ученые пытались понять развитие на основании взаимодействий клеток и тканей, приводящих к появлению многоклеточной структуры. Тем временем с точки зрения *генетики развития* онтогенез анализировали с помощью моделей действия отдельных генов. Эти два подхода дополняют друг друга, и с течением времени они объединились и дали начало современному уровню понимания механизмов развития.

В экспериментальной эмбриологии клетки и ткани развивающихся животных удаляются, перестраиваются, пересаживаются или выращиваются в чистом виде, чтобы обнаружить, как они влияют друг на друга. Часто результаты являются потрясающими: например, разрезанный надвое зародыш на ранней стадии развития может дать два полноценных и совершенно сформированных животных или, скажем, маленький кусочек ткани, пересаженный на новый участок, может реорганизовать

Рис. 22.5. Проследивание последовательности клеточных поколений в зародыше курицы на ранней стадии развития. Изображения в верхнем ряду получены при малом увеличении и показывают целый зародыш; в нижнем ряду — части его тела; видно распределение меченых клеток. Эксперимент с проследиванием судеб отдельных клеток выявляет сложные и масштабные их перестройки. *а, г)* Двумя крошечными пятнышками флуоресцентной краски, *красным и зеленым*, помечены малые группы клеток в зародыше после 20-ти часов инкубации. Хотя к этому времени зародыш все еще выглядит как почти лишенный всяческих характерных черт лоскут ткани, в нем уже просматривается некоторая специализация. Эти точки были помещены по обе стороны от структуры, называемой узлом. *б, д)* Шесть часов спустя некоторые из меченых клеток остались в узле (который отодвинулся назад), давая в этом месте яркое пятно флуоресценции, тогда как другие клетки начали перемещаться вперед относительно узла. *в, е)* Спустя еще 8 часов отчетливо проявляются общие контуры тела: голова на переднем конце (*сверху*), центральная ось и ряды эмбриональных спинных сегментов, называемых сомитами, по обе стороны от нее. Узел отступил еще дальше к хвостовой части; одни из первоначально помеченных клеток остались в узле и дают яркое пятно флуоресценции, а другие переместились в положения, далеко отстоящие от него впереди, и стали частями сомитов. (Снимки любезно предоставлены Raquel Mendes and Leonor Saude.)



всю структуру развивающегося тела (**рис. 22.6**). Наблюдения такого рода могут быть расширены и уточнены, чтобы расшифровать лежащие в основе этих явлений межклеточные взаимодействия и правила поведения клеток. Такие эксперименты легче всего проводить на крупных зародышах, которые легко поддаются микрохирургии. Так, наиболее широко используемыми видами были птицы — особенно курица, — и земноводные — особенно африканская шпорцевая лягушка *Xenopus laevis*.

22.1.5. Исследования мутантных животных помогают идентифицировать гены, которые управляют процессами развития

Специалисты в области генетики развития начинают свои исследования с отбора мутантных животных с ненормальным развитием. Обычно это осуществляется посредством *генетического отбора*, описанного в главе 8. Родительские животные обрабатываются химическим мутагеном или ионизирующим излучением с целью вызвать мутации в их зародышевых клетках, далее изучается большое число их потомков. Те редкие мутантные особи, которые показывают некоторое интересное отклонение в развитии, — к примеру, аномальное развитие глаза, — отбираются для дальнейшего изучения. Таким способом можно обнаружить гены, которые нужны именно для нормального развития любой выбранной для изучения особенности организма. Путем клонирования и секвенирования гена, найденного таким

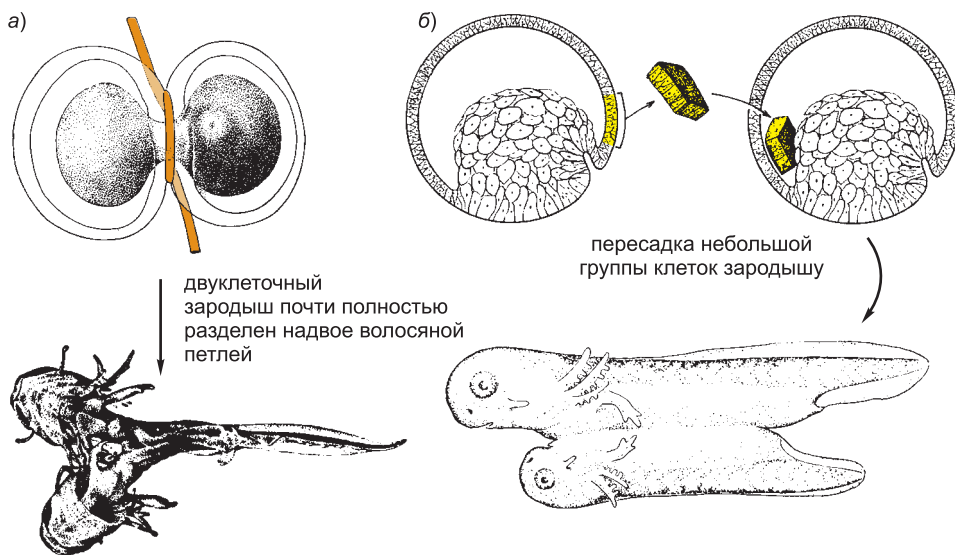


Рис. 22.6. Некоторые поразительные результаты, полученные экспериментальной эмбриологией. На изображении *а* находящийся на ранней стадии развития зародыш земноводного почти полностью разделен на две половины волосистой петлей. На изображении *б* зародышу земноводного на несколько более поздней стадии развития пересаживается маленькая группа клеток от другого эмбриона того же возраста. В результате этих совершенно разных по сути операций единственный зародыш развивается в пару соединенных (сиамских) близнецов. В эксперименте *а* возможно даже разделить зародыш на две абсолютно отдельные половины; в таком случае получаются два самостоятельных правильно сформированных головастика. (Изображение *а* переработано на основе Н. Spemann, *Embryonic Development and Induction*. New Haven: Yale University Press, 1938; изображение *б* построено на основе J. Holtfreter and V. Hamburger, in *Analysis of Development* [В. Н. Willier, P. A. Weiss and V. Hamburger, eds.], pp. 230–296. Philadelphia: Saunders, 1955.)

образом, можно опознать его белковый продукт, исследовать, как он работает, и начать анализ регуляторной ДНК, которая управляет его экспрессией.

Генетический подход проще применить к животным малых размеров с коротким временем смены поколений, которых можно выращивать в лаборатории. Первым объектом, выбранным для подобного рода исследований, была плодовая мушка *Drosophila melanogaster*, которую мы обстоятельно рассмотрим ниже. Однако тот же подход был успешен и с нематодой *Caenorhabditis elegans*, и с рыбой *Danio rerio*, и с мышью *Mus musculus*. Безусловно, людей никто не будет подвергать направленному мутагенезу, но в ходе медицинских обследований у них нередко выявляют генетические нарушения. У людей возникает множество мутаций, вызывающих совместимые с жизнью отклонения, поэтому исследования таких пациентов, а также их клеток, обеспечивают важные предпосылки к пониманию процессов развития организма человека.

22.1.6. Задолго до видимых изменений клетка принимает решения, связанные с развитием

Путем простого наблюдения или с помощью индикаторного красителя и прочих методов меченых клеток, можно обнаружить, каков будет путь дифференцировки

данной клетки в зародыше, если этому зародышу предоставлена возможность развиваться обычным образом. Этот путь может завершиться для клетки смертью, или, допустим, превращением в нейрон, или участием в формировании такой части тела, как ступня, или, наконец, появлением потомства из рассеянных по всему организму клеток. Однако знать **путь дифференцировки клетки** в таком смысле означает почти ничего не знать о внутренней (собственной) характеристике клетки. В одной крайности клетка, которая должна стать, скажем, нейроном, может быть уже специализирована таким способом, который гарантирует, что она станет нейроном независимо от того, как будет нарушаться окружающая ее среда; говорят, что такая клетка детерминирована к своей цели дифференцировки. В другой крайности клетка может быть биохимически идентична другим клеткам, подготовленным к иным путям дифференцировки, и единственное различие между ними будет заключаться в случайном попадании в то или иное место в теле зародыша, от которого-то и будут зависеть дальнейшие пути дифференцировки.

Состояние предопределенности клетки может быть установлено путем ее пересадки в разные окружающие среды (**рис. 22.7**). Один из ключевых выводов экспериментальной эмбриологии — благодаря клеточной памяти клетка может стать предопределенной задолго до того, как она показывает какой-либо очевидный признак своей дифференцировки.

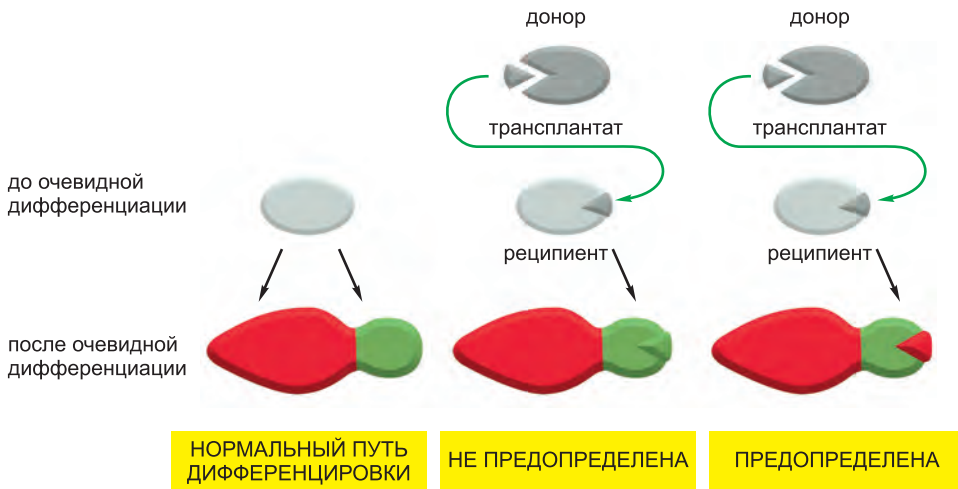


Рис. 22.7. Стандартная проба на предопределенность клеток.

Между крайностями абсолютно предопределенной и совершенно непредопределенной клетки лежит целый спектр возможностей. Например, клетка может быть уже отчасти специализированной для своего нормального пути дифференцировки, с сильным тяготением к развитию в этом направлении, но все еще способной измениться и пойти по иному пути, если будет помещена в достаточно способствующую этому среду. (Некоторые специалисты в области биологии развития описали бы такую клетку как специализированную или коммитированную, но еще не детерминированную.) Или же клетка может быть предопределена, скажем, к развитию в клетку мозга, но еще не детерминирована относительно того, предстоит ли ей стать нейронной или глиальной составляющей мозга. И часто оказывается

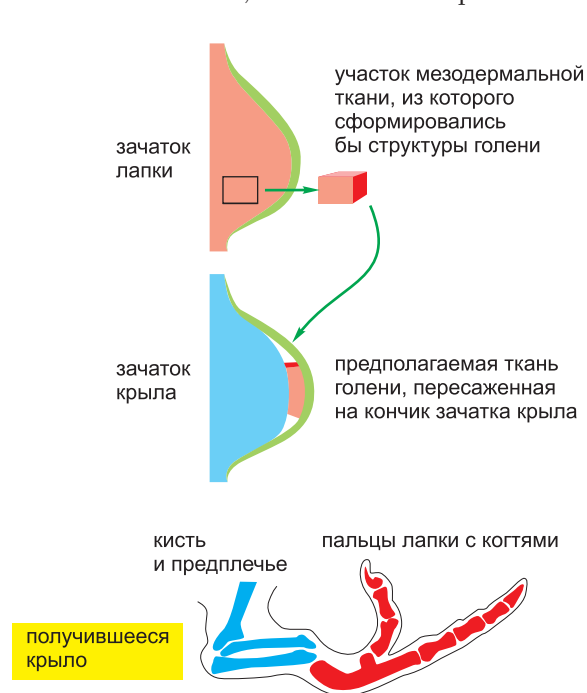
так, что прилегающие друг к другу клетки одного и того же типа взаимодействуют и зависят от взаимной поддержки для сохранения своего специализированного характера, так что они будут вести себя как детерминированные, если останутся вместе в одной группе, и забудут об этом, если их разобщить.

22.1.7. Клетки запоминают позиционные значения, которые отражают их местоположение в теле

Во многих системах, еще задолго до того как клетки станут коммитированными на специфический путь дифференцировки, они становятся *регионально детерминированными*: то есть они включают и поддерживают экспрессию тех генов, которые наилучшим образом могут быть описаны как маркеры точного положения или целой области в теле. Такой позиционный признак клетки называют ее **позиционным значением**, оно оказывает влияние на поведение клетки на последующих этапах формирования структуры организма.

Развитие ноги и крыла курицы дает нам яркий пример. И нога, и крыло взрослой птицы состоят из мышц, костей, кожи и так далее — почти одного и того же набора дифференцированных тканей. Различие между этими двумя конечностями заключается не в типах тканей, а в способе расположения этих тканей в пространстве. Так как же возникает это различие?

В зародыше курицы нога и крыло появляются примерно в одно и то же время в виде маленьких, имеющих форму языка почек конечностей, расположенных по бокам тела. Клетки в обеих парах почек конечностей сначала кажутся похожими и одинаково недифференцированными. Но простой эксперимент показывает, что такое кажущееся единообразие обманчиво. Маленький кусочек недифференцированной ткани в основании зачатка ноги, из области, которая в норме превратилась бы в часть голени, может быть вырезан и пересажен на кончик зачатка крыла.



Примечательно, что привитая ткань формирует ни соответствующую часть кончика крыла, ни неуместную в этом месте часть ткани голени, но палец ноги (рис. 22.8). Этот эксперимент показывает, что ранние клетки зачатка ноги уже детерминированы на принадлежность к ноге, но еще не направлены безвозвратно на формирование какой-то конкретной ее части: они все еще могут отвечать на стимулы зачатка крыла, так что они формируют структуры, соответствующие кончику предопределенной им ко-

Рис. 22.8. Потенциальная ткань голени, пересаженная на кончик зачатка крыла курицы, формирует пальцы лапки. (На основе J. W. Saunders et al., *Dev. Biol.* 1: 281–301, 1959. С любезного разрешения издательства Academic Press.)

нечности, а не ее основанию. Очевидно, сигнальная система, которая управляет различиями между частями конечности, одинакова у ноги и у крыла. Различие между этими двумя конечностями следует из различия во внутренних состояниях образующих их клеток, установившихся в начале развития конечности.

Различие позиционного значения между клетками передней конечности позвоночного и клетками задней конечности обуславливает экспрессию разных наборов генов, кодирующих регуляторные белки, которые, как думают, заставляют клетки в зачатках обеих конечностей вести себя по-разному (рис. 22.9). Позже в этой главе мы объясним, как в отдельном зачатке конечности устанавливается следующий, более детальный уровень структуры.



Рис. 22.9. Зародыши курицы на 6-й день инкубации; видны зачатки конечностей, окрашенные путем гибридизации *in situ* с зондами для обнаружения экспрессии генов *Tbx4*, *Tbx5* и *Pitx1*, кодирующих родственные регулирующие белки. Клетки, экспрессирующие ген *Tbx5*, формируют крыло; что экспрессирующие гены *Tbx4* и *Pitx1*, формируют ноги. Искусственная экспрессия гена *Pitx1* в зачатке крыла приводит к развитию этой конечности с признаками, свойственными ноге. (Снимки любезно предоставлены Malcolm Logan.)

22.1.8. Индуктивные сигналы могут привести к появлению упорядоченных различий между первоначально идентичными клетками

На каждой стадии своего развития клетке зародыша предоставляется ограниченный набор вариантов, зависящий от состояния, которого она достигла: клетка продвигается по многократно разветвляющемуся пути развития. В каждой ветви пути она должна делать выбор, и последовательность сделанных ею выборов определяет ее конечное специфическое состояние. Таким вот образом создается сложное множество клеток разного типа.

Чтобы понять развитие организма, нам необходимо знать, чему подчинен каждый выбор между вариантами, и как эти варианты зависят от выборов, сделанных ранее. Сведем этот вопрос к его наипростейшей форме: за счет чего две клетки с одним и тем же геномом, но разделенные в пространстве, все более и более различаются друг от друга по ходу развития?

Наиболее прямой способ сделать клетки различными — подвергнуть их воздействию разных окружающих сред, причем наиболее важные внешние стимулы, воздействующие на клетки зародыша, — это сигналы от соседних клеток. Таким образом, в соответствии с самой общей схемой образования структур, группа клеток начинает с того, что состоит из элементов с одинаковым потенциалом развития. Затем сигнал от клеток извне этой группы переводит одного или нескольких ее

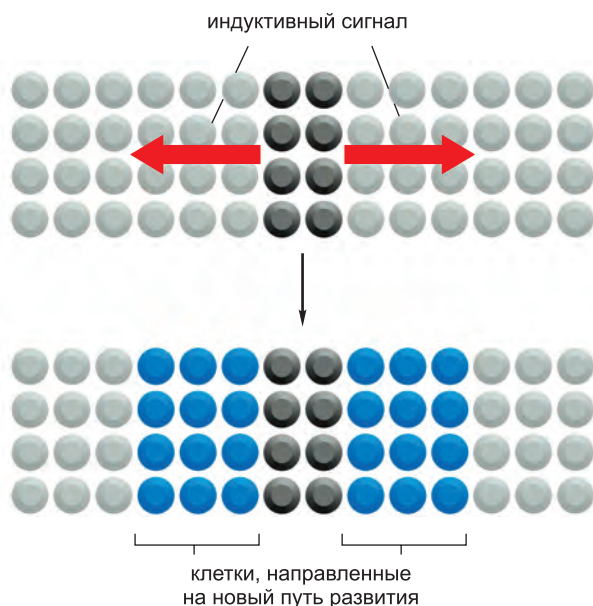


Рис. 22.10. Отправление индуктивных сигналов.

зывают *группой эквивалентности*, или *морфогенетическим полем*. Эта группа может состоять только как из двух, так и из тысяч клеток, причем в зависимости от силы и распределения сигнала, индуцировано может быть любое их число.

22.1.9. При асимметричном делении клетки могут возникнуть отличающиеся друг от друга сестринские клетки

Рост многообразия клеток не всегда должен зависеть от внеклеточных сигналов: в некоторых случаях сестринские клетки рождаются разными в результате **асимметричного деления клетки**, при котором во время деления материнской клетки некоторый значительный набор молекул неравноценно распределяется между обеими дочерними клетками. В дальнейшем такая асимметрично разделенная молекула (или набор молекул) выступает в роли *определителя*, или детерминанта одного из путей дифференцировки клетки путем прямого или косвенного изменения экспрессии генов в дочерней клетке, которая ее получила (рис. 22.11).

Асимметричные деления часто происходят в начале развития, когда оплодотворенная яйцеклетка делится на дочерние клетки с различными путями дифференцировки, но встречаются также и на некоторых более поздних стадиях — например, в ходе образования нервных клеток.

22.1.10. Положительная обратная связь способна вызвать асимметрию там, где ее раньше не было

Отправление индукционных сигналов и асимметричное деление клеток представляют собой две разные стратегии создания различий между клетками. Однако обе они предполагают наличие в системе некоторой предварительной асимметрии: источник индукционного сигнала должен быть распределен таким образом, чтобы

членов на разные пути развития, изменяя их признаки. Этот процесс называют **индукционным взаимодействием**. Вообще, сигнал ограничен во времени и пространстве, так что только малая группа компетентных клеток, самых близких к источнику сигнала, приобретает такой индуцированный признак (рис. 22.10).

Одни индукционные сигналы относят к сигналам «ближнего действия», особенно передающиеся через межклеточные контакты; другие классифицируют как сигналы «дальнего действия», опосредствуемые молекулами, способными распространяться через внеклеточную среду. Группу первоначально подобных клеток, компетентных отвечать на сигнал, иногда на-

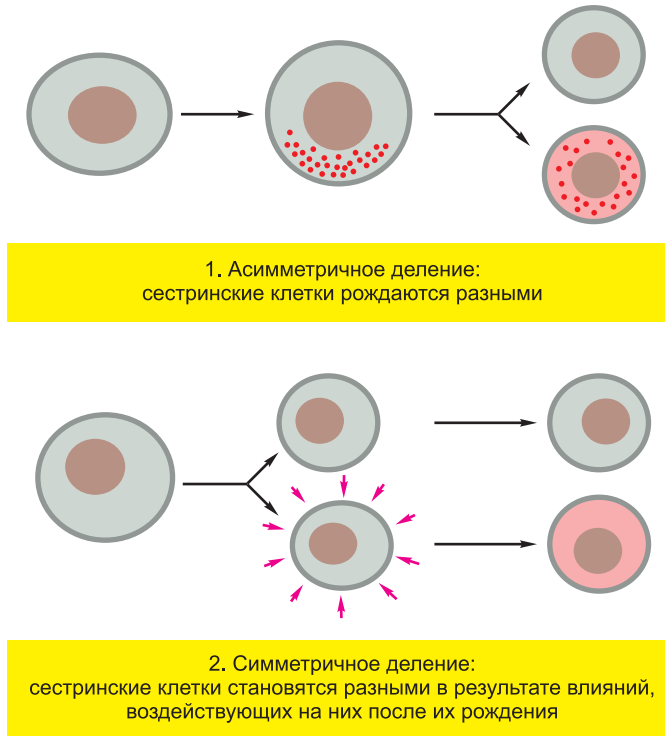


Рис. 22.11. Два пути получения неодинаковых сестринских клеток.

некоторые клетки получали интенсивный сигнал, а другие не получали его вовсе; либо материнская клетка должна уже иметь перед делением внутреннюю асимметрию. Очень часто история системы гарантирует наличие некоторой начальной асимметрии будет иметь место. Но что если ее нет, или если начальная асимметрия очень слабая?

Ответ заключается в **положительной обратной связи**: за счет положительной обратной связи система, которая начинает свое развитие однородной и симметричной, может самопроизвольно себя структурировать даже там, где вообще нет никакого организованного внешнего сигнала. А там, где, как очень часто бывает, окружающая среда или начальные условия налагают некоторую слабую, но определенную начальную асимметрию, положительная обратная связь обеспечивает средства усилить этот эффект и дать начало полностью развитой структуре.

Чтобы показать эти представления об обратной связи, рассмотрим пару смежных клеток, которые начинают свой путь во взаимно подобном состоянии и могут обмениваться сигналами, чтобы влиять на поведение друг друга (рис. 22.12). Чем больше каждая из клеток производит некоторого продукта X, тем больше она посылает соседней клетке сигнал, ингибирующий производство ею продукта X. Такого рода межклеточное взаимодействие называют *латеральным ингибированием*, и оно обуславливает петлю положительной обратной связи, которая стремится усиливать любое начальное различие между этими двумя клетками. Такое различие может явиться результатом смещения, налагаемого некоторым внешним или предшествующим фактором, или оно может просто проистекать из случайных самопроизвольных

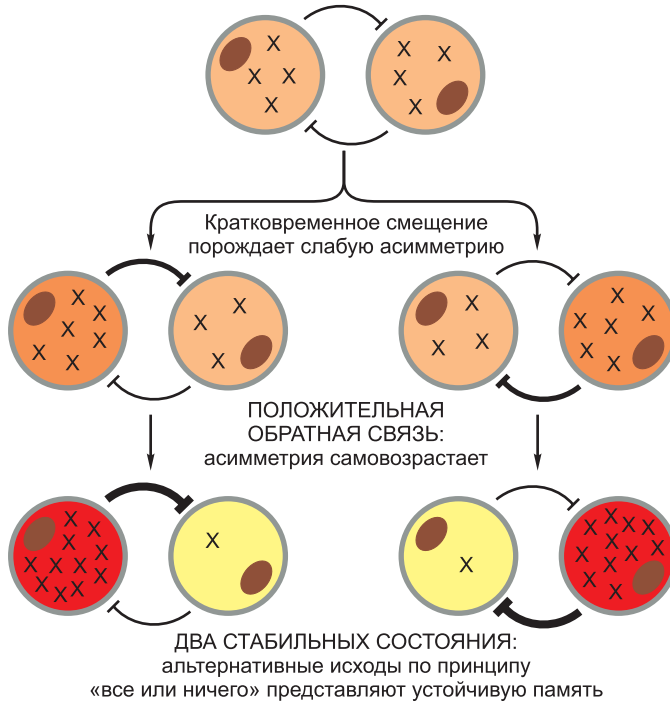


Рис. 22.12. Появление асимметрии за счет положительной обратной связи. В этом примере две клетки взаимодействуют между собой: каждая из них производит вещество X, которое воздействует на другую клетку и подавляет производство ею вещества X, то есть осуществляет так называемое латеральное ингибирование. Увеличение содержания вещества X в одной из клеток ведет к установлению положительной обратной связи, которая стремится еще больше увеличить содержание вещества X в этой клетке и уменьшить его содержание в соседней. Это может породить быстро нарастающую неустойчивость и сделать эти две клетки совершенно разными. В конечном счете система останавливается в том или ином из двух противоположных устойчивых состояний. Последнее выбранное состояние представляет собой некую форму памяти: слабое влияние, которое первоначально обусловило его выбор, более не требуется для его поддержания.

колебаний, или «шума» — неизбежного регуляции генов в клетках, о чем говорилось в главе 7. В любом случае, латеральное ингибирование означает, что если клетка №1 производит немного больше продукта X, то она тем самым вынуждает клетку №2 вырабатывать его меньше; а потому, что клетка №2 делает меньше продукта X, она посылает меньше тормозящего сигнала клетке №1 и таким образом позволяет клетке №1 еще больше повышать количество продукта X, и так далее, пока не будет достигнуто устойчивое состояние, в котором клетка №1 содержит много продукта X, а клетка №2 содержит его очень мало.

Математический анализ показывает, что это явление зависит от силы воздействия латерального ингибирования: если оно будет слишком слабым, то колебания угаснут и не будут оказывать никакого длительного воздействия; но если оно будет довольно сильным и достаточно резким, то они будут самоусиливаться безудержным образом, нарушая начальную симметрию между этими двумя клетками. Латеральное ингибирование, часто опосредствуемое обменом сигналами в местах межклеточных

контактов через путь передачи сигналов Notch (обсуждавшийся нами в главе 15), является обычным механизмом увеличения многообразия клеток в тканях животных, побуждающим соседние клетки специализироваться разным образом.

22.1.11. Положительная обратная связь создает структуры организма, обеспечивает ответ «всё или ничего» и клеточную память

До некоторой степени подобные процессы положительной обратной связи могут работать и в более крупных группах клеток, порождая пространственные структуры многих типов. Например, вещество А (активатор ближнего действия) может стимулировать свое собственное производство в клетках, которые его содержат, и в их ближайших соседях, наряду с этим заставляя их производить сигнал Н (ингибитор дальнего действия), который распространяется на значительное расстояние и тормозит производство активатора А в далеко отстоящих клетках. Если все клетки начинают свой путь на одинаковой основе, но одна группа клеток получает небольшое преимущество и производит немного больше вещества А, чем остальные, то такая асимметрия может самоусиливаться. Активация ближнего действия, сочетающаяся описанным образом с ингибированием дальнего порядка, может служить объяснением формирования в пределах изначально однородной ткани групп клеток, которые специализируются в сосредоточенные *сигнальные центры*.

На другом конце размерного диапазона положительная обратная связь также может быть средством, с помощью которого отдельная клетка становится самопроизвольно поляризованной и внутренне асимметричной за счет систем внутриклеточных сигналов, которые делают слабую начальную асимметрию самоусиливающейся.

Через все эти и многие другие разновидности положительной обратной связи просматриваются некоторые общие принципы. В каждом из вышеупомянутых примеров положительная обратная связь ведет к *нарушенной симметрии*, и нарушение симметрии представляет собой явление типа «все или ничего». Если обратная связь ниже некоторой пороговой силы, то клетки остаются почти одинаковыми, если же обратная связь выше этого порога, то они становятся резко отличающимися. Выше этого порога система *бистабильна* или даже *мультистабильна* — она смещается к тому или иному из двух и более резко отличающихся исходов, в зависимости от того, которая из клеток (или который из концов одной клетки) получает первоначальное преимущество.

Выбор между альтернативными исходами может быть продиктован внешним сигналом, который дает одной из клеток маленькое начальное преимущество. Но как только положительная обратная связь сделает свою работу, этот внешний сигнал становится несущественным. Если установлена нарушенная симметрия, то она очень трудно поддается изменению в обратную сторону: положительная обратная связь делает выбранное асимметричное состояние самоподдерживающимся, даже после того как сигнал смещения исчезает. Таким образом, положительная обратная связь обеспечивает систему *памятью* о предыдущих сигналах.

В развивающихся организмах все эти действия положительной обратной связи — нарушение симметрии, ответы типа «все или ничего», взаимоисключающие состояния и память — идут рука об руку и проявляются вновь и вновь много раз. Они основополагающи для создания четко очерченных, устойчивых структурированных групп клеток, пребывающих во множестве различных состояний.

22.1.12. Программами развития управляет небольшой набор многократно используемых сигнальных путей

Что же это за молекулы, которые служат сигналами, координирующими формирование пространственных структур в зародыше, или создают асимметрию *de novo*, или выступают в роли индукторов, выделяемых установившимися сигнальными центрами и управляющих ростом многообразия соседних клеток? В принципе, это может быть внеклеточная молекула любого рода. На практике, большинство известных событий индукции в ходе развития животного управляется лишь горсткой сигнальных белков из сильно консервативных семейств, которые используются снова и снова в различных контекстах. Открытие такого ограниченного словаря, используемого клетками для общения в ходе развития организма, явилось за последние 10 или 20 лет одним из великих открытий, упрощающих биологию развития. В [таблице 22.1](#) мы вкратце описываем шесть главных семейств сигнальных белков, которые многократно служат индукторами в ходе развития животного. Детали внутриклеточных механизмов, через которые эти молекулы действуют, изложены в главе 15.

Таблица 22.1. Некоторые сигнальные белки, неоднократно используемые в качестве индукторов в ходе развития животных

| ПУТЬ ПЕРЕДАЧИ СИГНАЛОВ | СЕМЕЙСТВО ЛИГАНДОВ | СЕМЕЙСТВО РЕЦЕПТОРОВ | ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ИНГИБИТОРЫ/ПОСРЕДНИКИ |
|---------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| Рецепторные тирозинкиназы (РТК) | EGF FGF(Branchless) Ephrins | EGF FGF (Breathless) Eph | Argos |
| Надсемейство TGF β | TGF β BMP (Dpp) Nodal | TGF β BMP | chordin (Sog), noggin |
| Wnt | Wnt (Wingless) | Frizzled | Dickkopf, Cerberus |
| Hedgehog | Hedgehog | Patched, Smoothened | |
| Notch | Delta | Notch | Fringe |

Конечный результат большинства событий индукции — изменение транскрипции ДНК в отвечающей на сигнал клетке: одни гены включаются, а другие выключаются. Разные сигнальные молекулы активируют разные виды регулирующих гены белков. Более того, эффект активации данного регуляторного белка будет зависеть от того, какие другие регуляторные белки также присутствуют в клетке, так как они, вообще-то, работают сообща. В результате клетки разного типа, как правило, по-разному отвечают на один и тот же сигнал, а одни и те же клетки зачастую по-разному реагируют на один и тот же сигнал, посылаемый в разное время. Реакция будет зависеть как от других регуляторных белков, которые присутствовали до получения сигнала, — что отражает память клетки о сигналах, полученных ранее, — так и от других сигналов, получаемых клеткой наряду с этим сигналом.

22.1.13. Морфогены — индукторы дальнего действия, которые обеспечивают градуальный эффект

Сигнальные молекулы, как это часто оказывается, управляют простым выбором типа «да — нет»: один ответ, когда их концентрация высока, другой, когда она низка. Положительная обратная связь может обусловить клеточные реакции

по принципу «все или ничего», так что будет получен один результат, когда сигнал ниже некоторой критической величины, и другой результат, когда он выше этой величины. Однако во многих случаях реакции градуированы более тонко: высокая концентрация может, например, направить целевые клетки на один путь развития, промежуточная концентрация — на другой, а низкая концентрация — на какой-то еще. Важное значение имеет тот случай, в котором сигнальная молекула распространяется из локального сигнального центра и по этой причине создает градиент концентрации сигнала. Находящиеся на разных расстояниях от источника клетки побуждаются к целому множеству вариантов поведения, зависящих от концентрации сигнала в окружающей их среде.

В таблице 22.1 приведено только несколько представителей каждого класса белков — главным образом те, что упоминаются в этой главе. В круглые скобки заключены названия, специфические для дрозофилы. Многие из приведенных компонентов имеют по несколько гомологов, отличающихся номерами (FGF1, FGF2 и т. д.) или именами (Sonic hedgehog, Lunatic fringe). Другие пути передачи сигналов, в том числе JAK/STAT, рецептор ядерных гормонов и связанный G-белком рецептор клеточной поверхности, также играют важные роли в некоторых процессах, связанных с развитием.

Сигнальную молекулу, которая таким образом налагает некую конфигурацию на целое поле клеток, называют **морфогеном**. Конечности позвоночного показывают яркий пример действия морфогена: группа клеток на одной стороне зачатка конечности зародыша специализируется в сигнальный центр и выделяет белок Sonic hedgehog — член семейства сигнальных молекул Hedgehog. Этот белок распространяется из своего источника и формирует *градиент морфогена*, который управляет свойствами клеток зачатка конечности, расположенных по оси от большого пальца к мизинцу. Если на противоположную сторону зачатка пересаживается дополнительная группа сигнальных клеток, то происходит зеркальное дублирование группы пальцев (**рис. 22.13**).

22.1.14. Внеклеточные ингибиторы сигнальных молекул формируют ответ на индуктор

Сигнальным молекулам, в особенности таким, которые могут действовать на расстоянии, ограничивать действие своего сигнала не менее важно, чем испускать его. Большинство сигнальных белков, связанных с развитием, имеют внеклеточные антагонисты, способные ингибировать их функции. Эти антагонисты, как правило, представлены белками, которые связываются с сигнальной молекулой или с ее рецептором и тем самым препятствуют протеканию продуктивного взаимодействия.

Удивительно большое число решений, связанных с развитием, фактически регулируется ингибиторами, а не первичной сигнальной молекулой. Нервная система в зародыше лягушки возникает на основе поля клеток, способного давать нервную либо эпидермальную ткань. Индуцирующая ткань выделяет белок хордин, способствующий образованию нервной ткани. Хордин не имеет своего собственного рецептора. Вместо этого, он выступает в роли ингибитора сигнальных белков из семейства BMP/TGF β , которые индуцируют развитие эпидермальной ткани и присутствуют во всей нейроэпителиальной области, где формируются нейроны и эпидермис. Таким образом, индуцирование нервной ткани происходит за счет ингибирующего градиента антагонистического сигнала (**рис. 22.14**).

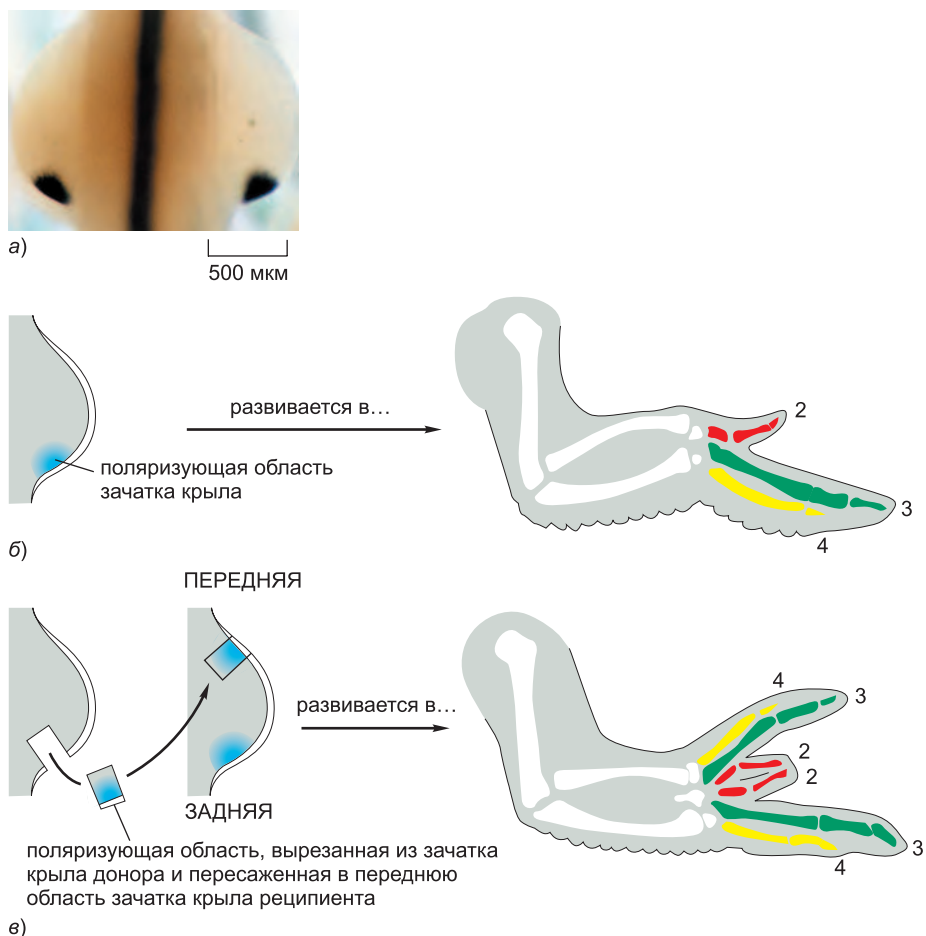


Рис. 22.13. Sonic hedgehog, выступающий в роли морфогена в ходе развития конечности курицы. *а)* Экспрессия гена *Sonic hedgehog* в 4-дневном зародыше курицы, определенная методом гибридизации *in situ* (вид со спины на туловище на уровне зачатков крыльев). Ген экспрессируется по средней линии тела и по задней границе (поляризирующая область) каждого из двух зачатков крыльев. Белок *Sonic hedgehog* распространяется из этих источников.

б) Нормальное развитие крыла. *в)* Пересаженный участок ткани из поляризирующей области вызывает зеркальное дублирование структуры принявшего его крыла. Тип развивающегося пальца, как полагают, обусловлен локальной концентрацией белка *Sonic hedgehog*; поэтому пальцы разного типа (помеченные номерами 2, 3 и 4) формируются в соответствии с их расстоянием от источника белка *Sonic hedgehog*. (Изображение *а* любезно предоставлено Randall S. Johnson и Robert D. Riddle.)

22.1.15. Сигналы к развитию могут распространяться через ткань несколькими различными путями

Многие сигналы к развитию, как думают, распространяются через ткани путем простой диффузии через межклеточное пространство. Если некоторая специализированная группа клеток с неизменной скоростью производит сигнальную молекулу и этот морфоген затем деградирует по мере диффузии и распространения от этого источника, то с течением времени установится плавный градиент с максимумом

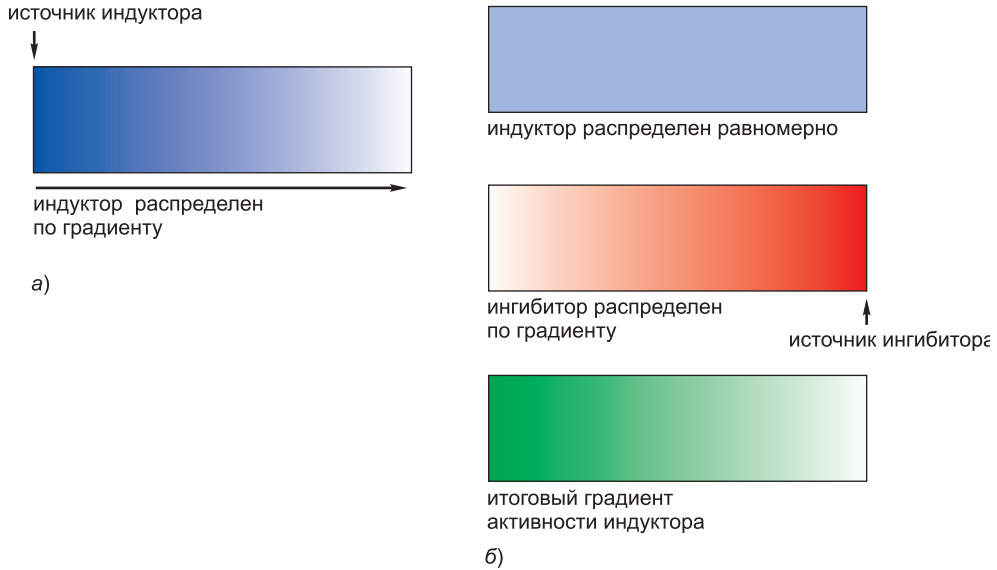
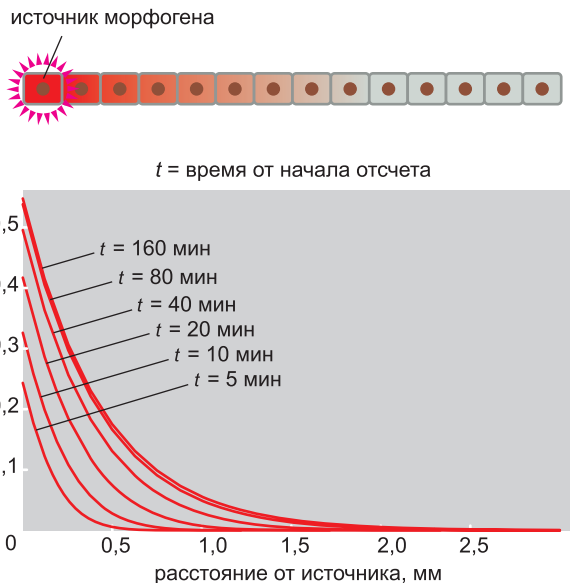


Рис. 22.14. Два способа установления градиента морфогена. а) Путем ограниченного в пространстве производства индуктора — морфогена, — который диффундирует от своего источника. б) Путем ограниченного в пространстве производства ингибитора, диффундирующего от своего источника и блокирующего действие равномерно распределенного индуктора.

в источнике морфогена. Скорость диффузии и время полураспада морфогена будут сообща определять крутизну этого градиента (рис. 22.15).

Рис. 22.15. Установление градиента сигнала за счет диффузии. На графиках показаны последовательные стадии наращивания концентрации сигнальной молекулы, которая производится источником с постоянной скоростью, причем производство начинается во время 0. Молекула подвергается деградации по мере диффузии от источника, в силу чего устанавливается градиент концентрации с пиком в источнике. Графики рассчитаны с допущением: диффузия протекает вдоль одной оси пространства, время полураспада молекулы $t_{1/2} = 20$ минут и она диффундирует с постоянным коэффициентом диффузии $D = 0,4 \text{ мм}^2 \cdot \text{ч}^{-1}$, типичным для маленькой (30 кДа) белковой молекулы в воде. Обратите внимание, что по прошествии часа градиент уже близок к его стационарной форме, а концентрация морфогена в стационарной форме (большие значения времени) падает по экспоненте с увеличением расстояния.



Этот простой механизм может видоизменяться многими способами, изменяя форму и крутизну градиента. Рецепторы на поверхностях клеток могут улавливать диффундирующий морфоген на его пути и подвергать эндоцитозу и деградации, сокращая время его эффективного периода полураспада. Или он может связываться с молекулами во внеклеточном матриксе и тем самым снижать свою эффективную скорость диффузии. В некоторых случаях оказывается, что морфоген забирается клетками путем эндоцитоза и затем выводится обратно — только для того, чтобы быть поглощенным и снова, в свою очередь, выведенным другими клетками, так что сигнал распространяется в большей степени по внутриклеточному пути.

Еще один механизм распределения сигнала в пространстве зависит от длинных тонких филоподий, или *цитонем*, которые в некоторых эпителиальных тканях простираются от клеток более чем на несколько клеточных диаметров. Клетка может выпускать цитонемы и создавать контакты с отдаленными клетками — чтобы посылать им сигналы или получать их самой. Таким образом, клетка, например, может осуществлять латеральное ингибирование широкой группы соседей через путь Notch.

22.1.16. Часто хронологию развития клетки определяют заложенные в нее программы

Сигналы вроде тех, которые мы только что описали, играют большую роль в управлении хронометражем событий в ходе развития, но было бы неверно представлять, что каждому изменению, связанному с развитием, нужен индуктивный сигнал для его запуска. Многие из механизмов, изменяющих свойства клетки, присущи самой клетке и не требуют никакого стимула из окружающей ее внешней среды: клетка проходит свою программу развития даже в том случае, если выдерживается в неизменной среде. Известны многочисленные случаи, когда можно было бы подозревать, что в ходе управления продолжительностью процесса развития происходит что-то подобное. Например, у мыши нервные клетки-предшественники в коре головного мозга продолжают делиться и образуют нейроны на протяжении всего 11 клеточных циклов, у обезьяны — в течение примерно 28 циклов, после чего останавливаются. На разных шагах этой программы производятся нейроны разных видов, исходя из чего можно предположить, что, по мере того как клетка-предшественник стареет, она изменяет предписания, которыми снабжает дифференцирующиеся клетки потомства.

Конечно, в контексте интактного зародыша трудно доказать, что такая череда событий является результатом лишь автономного для клетки процесса хронометрирования, так как окружающая среда клетки изменяется. Однако эксперименты на клетках в культуре явно свидетельствуют об этом. Например, глиальные клетки-предшественники, выделенные из зрительного нерва на 7-й день после рождения крысы и выращиваемые в культуре при неизменных условиях в надлежащей среде, продолжают пролиферировать в течение строго ограниченного времени (соответствующего не более чем восьми циклам деления клеток) и затем дифференцируются на олигодендроциты (глиальные клетки, которые формируют миелиновые оболочки вокруг аксонов в мозгу), повинувшись расписанию, подобному тому, которому они следовали бы, если бы их оставили на своих местах в зародыше.

Молекулярные механизмы, лежащие в основе таких медленных изменений во внутренних состояниях клеток, которые длятся днями, неделями, месяцами или даже годами, все еще неизвестны. Единственная возможность состоит в том, что

они отражают последовательные изменения в состоянии хроматина (о которых говорили в главе 4).

Механизмы, которые управляют хронометражем более быстрых процессов, хотя также плохо изучены все же не являются столь загадочными. Позже мы обсудим пример — осцилятор экспрессии генов, известный как *часы сегментации*, который управляет формированием сомитов у зародышей позвоночных — зачатков ряда позвонков, ребер и связанных с ними мышц.

22.1.17. Исходные структуры закладываются в небольших ареалах клеток, а затем, по мере того как зародыш растет, уточняются за счет последовательной индукции

Сигналы, которые организуют пространственную структуру организма зародыша, обычно действуют на коротких расстояниях и управляют относительно простыми выборами. Морфоген, к примеру, обычно действует на расстоянии не более 1 мм — эффективный диапазон для диффузии (см. рис. 22.15) — и управляет выбором в клетках, на которые он воздействует, между не более чем несколькими вариантами дальнейшего пути развития. Но развивающиеся в конечном счете органы намного крупнее и гораздо сложнее, чем такая микроскопическая клеточная область.

Пролиферация клеток, которая следует за первичной специализацией, объясняет увеличение размеров, тогда как уточнение исходной структуры объясняется рядом местных индукций, которые последовательными уровнями детализации украшают первоначальный грубый набросок ткани. Как только возникают клетки двух видов, одни из них могут производить некий фактор, который будет индуцировать подгруппу соседних клеток специализироваться каким-либо третьим образом. Клетки третьего типа могут, в свою очередь, направлять сигнал обратно к расположенным поблизости клеткам других двух типов и дать начало клеткам четвертого и пятого типов и так далее (рис. 22.16).

Такую стратегию создания последовательно усложняющейся структуры называют **последовательной индукцией**. Именно через ряд последовательных индукций общее строение организма развивающегося животного, сначала от набросанной вчерне миниатюры, чаще всего и превращается в искусно прорабатываемую во все более и более тонких деталях по мере протекания развития картину.

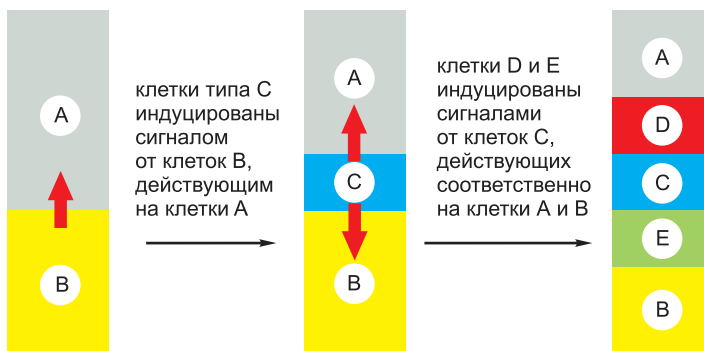


Рис. 22.16. Формирование пространственных структур организма путем последовательной индукции. Ряд индуктивных взаимодействий может вызывать образование множества типов клеток из нескольких исходных типов.

В последующих параграфах мы сосредоточимся на маленькой подборке модельных организмов, чтобы увидеть, как принципы, изложенные в общих чертах в этом первом параграфе, работают на практике. Начнем мы с круглого червя *Caenorhabditis elegans*.

Заклучение

Заметные изменения в поведении клетки, которые мы наблюдаем по мере развития многоклеточного организма, являются внешними проявлениями сложнейших молекулярных вычислений, зависящих от клеточной памяти, которая возникает и поддерживается в клетках, когда они получают и обрабатывают сигналы от своих соседей и посылают сигналы в ответ. Таким образом, конечная структура, состоящая из дифференцированных клеток разнообразных типов, является результатом скрытой на еще более глубоком уровне программы специализации клеток — программы, проявляющейся в изменяющихся уровнях экспрессии генов регуляторных белков, благодаря чему потенциальные возможности одной клетки могут отличаться от возможностей другой клетки задолго до того, как начнется окончательная дифференцировка. Ученые в области биологии развития стремятся расшифровать эту скрытую от нас программу и связать ее за счет данных генетических и микрохирургических экспериментов с сигналами, которыми клетки обмениваются по мере того, как разрастаются, взаимодействуют и перемещаются.

Такие, казалось бы, разные животные (червь, муха и человек) используют для управления своим развитием удивительно схожие наборы белков, таким образом, что открытое на одном организме, очень часто дает нам понимание о других организмах. Чтобы согласовать построение организованной многоклеточной структуры, разные организмы используют лишь несколько эволюционно консервативных путей передачи межклеточных сигналов, к которым многократно обращаются разные типы клеток. Различия в общем плане строения организма, оказывается, возникают во многом из различий в регуляторной ДНК, управляющей каждым геном. Такая ДНК играет центральную роль в определении последовательной программы развития — она вводит гены в действие в определенные моменты времени и в надлежащем месте, в соответствии с картиной экспрессии генов, имевшей место в каждой клетке на предыдущей стадии развития организма.

Различия между клетками зародыша возникают несколькими путями. Положительная обратная связь может привести к нарушенной симметрии и породить радикальное и неизменное различие между клетками, которые изначально являлись почти идентичными. В результате асимметричного деления клетки могут возникать разные сестринские клетки. Или же группа подобных клеток может подвергнуться воздействию разных индукционных сигналов от клеток вне группы; индукторы дальнего действия с градуальными эффектами, называемые морфогенами, могут организовать сложную структуру. Посредством клеточной памяти такие кратковременные сигналы могут оказывать длительное действие на внутреннее состояние клетки, побуждая ее, например, пойти по определенному пути дифференцировки. Таким образом, последовательности простых сигналов, действующих на массивы растущих клеток в нужное время и в нужном месте, дают начало сложным и разнообразным многоклеточным организмам, которые заполнили окружающий нас мир.

22.2. *Caenorhabditis elegans*: развитие с точки зрения отдельной клетки

Круглый червь из класса нематод *Caenorhabditis elegans* — маленький, относительно простой и отчетливо структурированный организм. Анатомия его развития описана необычайно подробно, и можно составить точную карту последовательности поколений практически каждой клетки в его теле. Полная последовательность его генома также известна, и проанализированы большие числа мутантных фенотипов с целью определения функций генов. Если и существует какое-либо многоклеточное животное, развитие которого мы должны уметь объяснить с позиций генетического управления, то это именно нематода *C. elegans*.

Сравнения последовательностей ДНК показывают, что, хотя линии эволюционного древа, ведущие к нематодам, насекомым и позвоночным, отклонились друг от друга приблизительно в одно и то же время, скорость эволюционных изменений в линии нематод была значительно выше: их гены, структура тела и стратегии развития отстоят дальше от наших, чем у дрозофилы. Тем не менее, на молекулярном уровне многие из присущих ему механизмов развития подобны таковым у насекомых или позвоночных и управляются системами генов, гомологичных генам животных последних двух типов. Если кто-то желает узнать, как развивается глаз, конечность или сердце, то ответ нужно искать в каком-нибудь другом месте: у *C. elegans* нет этих органов. Но на более фундаментальном уровне он очень полезен: он наглядно излагает основные общие вопросы развития животного в относительно простой форме и позволяет нам ответить на них в понятиях функций генов и поведения отдельных отождествленных с теми или иными ролями клеток.

22.2.1. В анатомическом отношении *Caenorhabditis elegans* довольно прост

Взрослый червь *C. elegans* состоит всего лишь из примерно 1000 соматических клеток и 1000–2000 зародышевых клеток. Если говорить точно, то у гермафродитов 959 ядер соматических клеток и приблизительно 2000 зародышевых клеток, а у самцов — 1031 ядро соматических клеток и около 1000 зародышевых клеток (рис. 22.17).

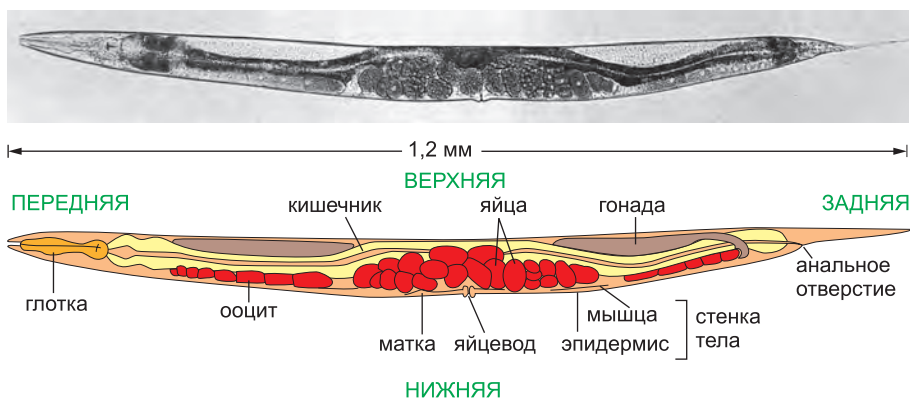


Рис. 22.17. *Caenorhabditis elegans*. Показан взрослый гермафродит на виде сбоку. (Заимствовано из J. E. Sulston and H. R. Horvitz, *Dev. Biol.* 56: 110–156, 1977. С любезного разрешения издательства Academic Press.)

Анатомия этого червя восстановлена клетка за клеткой с помощью электронной микроскопии серии последовательных срезов. Общее строение его организма простое: он имеет билатерально симметричное, продолговатое тело, состоящее из тех же основных тканей, что и другие животные (нервная, мышечная, кишечная, покровная), в переднем конце находится рот и мозг, а в заднем — анальное отверстие. Внешняя стенка тела состоит из двух слоев: защитный эпидермис, или «кожа», и нижележащая мышечная оболочка. Трубка эндодермальных клеток образует кишечный тракт. Вторая трубка, расположенная между кишечником и стенкой тела, образует гонаду; ее стенка состоит из соматических клеток, внутри расположены половые клетки.

Черви *C. elegans* двуполы, существуют гермафродиты и самцы. Для простоты, гермафродита можно рассматривать как самку, которая производит ограниченное число сперматозоидов: червь может размножаться путем самооплодотворения, используя свои собственные сперматозоиды, либо путем перекрестного оплодотворения сперматозоидами, полученными от мужской особи в ходе спаривания. Самооплодотворение позволяет одинокому гетерозиготному червю давать гомозиготное потомство. Это важная особенность, благодаря которой *C. elegans* является исключительно удобным организмом для генетических исследований.

22.2.2. Судьба каждой клетки развивающейся нематоды предсказуема

Червь *C. elegans* начинает жизнь с одной-единственной клетки — оплодотворенного яйца, которая путем последовательных клеточных делений дает начало 558 клеткам, из которых состоит к моменту вылупления из яичевой оболочки маленький червь. После вылупления дальнейшие деления клеток обуславливают рост и половое созревание червя по мере прохождения им четырех последовательных личиночных стадий, отделенных линьками. После заключительной линьки образуется взрослый червь-гермафродит, который начинает производить свои собственные яйца. Полная последовательность этапов развития, от яйца до яйца, занимает около трех суток.

Последовательность клеточных поколений всех клеток от одноклеточного яйца до многоклеточного взрослого организма определена при помощи прямого наблюдения развивающимся животным. У всех особей нематоды данная клетка-предшественник следует одной и той же схеме клеточных делений, и с очень немногими исключениями путь дифференцировки каждой клетки-потомка может быть предсказан по занимаемой ею позиции в дереве клеточных линий (рис. 22.18).

В развитии более крупных животных такая степень стереотипной точности не наблюдается. Исходя из этого, на первый взгляд могло бы показаться, что каждая клеточная линия в зародыше нематоды строго и независимо запрограммирована на следование установленной схеме деления и специализации клеток, в силу чего этот червь, к сожалению наблюдателя, являет собою не показательный в отношении развития модельный организм. Мы увидим, что это далеко не так: как и у прочих животных, развитие этого червя зависит как от межклеточных взаимодействий, так и от внутренних процессов отдельно взятых клеток. Исход развития нематоды почти полностью предсказуем попросту потому, что картина межклеточных взаимодействий легко воспроизводима и приведена в точное соответствие с последовательностью делений клеток.

В развивающемся черве, как и у других животных, большинство клеток не ограничивается созданием клеток-потомков какого-либо одного дифференцированного

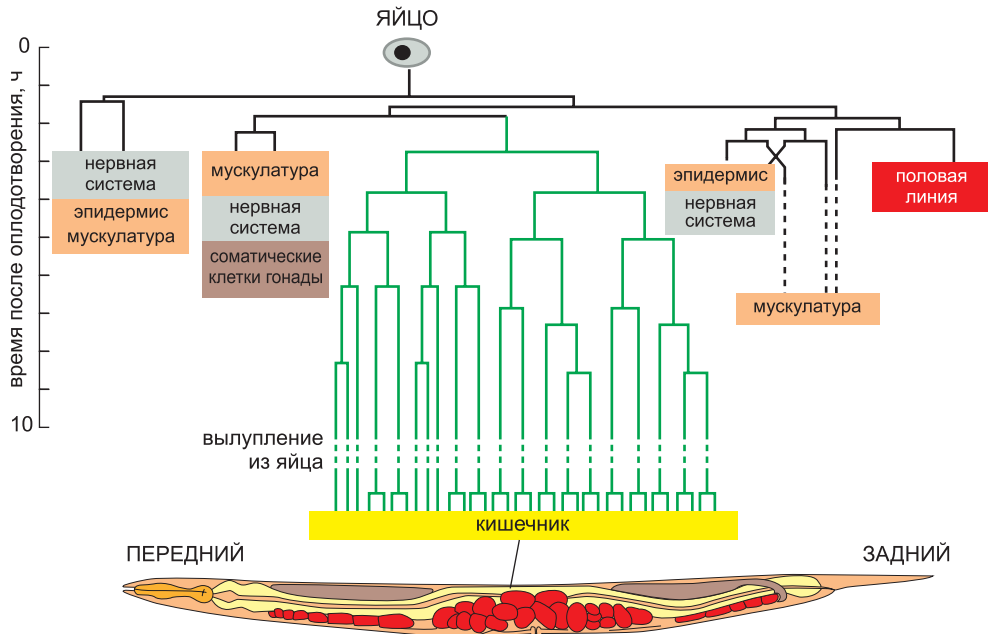


Рис. 22.18. Древо последовательности поколений клеток, образующих кишечный тракт *C. elegans*. Обратите внимание, что, хотя клетки кишечника образуют единичный клон (равно как и клетки половой линии), клетки большинства других тканей ведут себя иначе. Нервные клетки (не показаны на схеме взрослого червя в нижней части рисунка) главным образом группируются в ганглиях около переднего и заднего концов животного и в брюшном нервном тяже, который тянется по всей длине тела.

типа вплоть до довольно поздних стадий развития, и клетки того или иного конкретного типа, скажем, мышечные, обычно происходят от нескольких рассеянных в пространстве предшественников, которые дают начало также и клеткам других типов. Исключения у червя представлены кишечным трактом и гонадой, ибо каждый из этих органов формируется из единственной посвященной (узкоспециализированной) *клетки-основательницы*, возникшей на 8-клеточной стадии развития в случае линии клеток кишечника и на 16-клеточной стадии в случае линии зародышевых клеток, или *половой линии*. Но в любом случае увеличение многообразия клеток начинается рано, как только яйцо начинает дробиться: задолго до окончательной дифференцировки клетки начинают проходить через ряд промежуточных состояний специализации, следуя различным программам в зависимости от их местоположения в организме и от взаимодействий с соседними клетками. Как же возникают такие ранние различия между клетками?

22.2.3. Асимметричное деление яйца обеспечивается продуктами генов материнского эффекта

Червь показывает типичную для большинства животных раннюю спецификацию клеток, которые в конечном счете дадут начало половым клеткам (яйцеклеткам или сперматозоидам). Половая линия червя возникает в ходе строгой последовательности асимметричных делений клеток оплодотворенного яйца. Асимметрия возникает в результате стимула из окружающей яйцо среды: точка проникновения сперматозоида определяет будущий задний полюс продолговатого яйца. В даль-

нейшем белки яйца взаимодействуют друг с другом и организуются относительно этой точки, с тем чтобы создать более сложную асимметрию внутри этой клетки. Вовлеченные в это дело белки транслируются главным образом с накопленных мРНК-продуктов генов матери. Поскольку такая РНК производится еще до откладывания яйца, получается, что только генотип матери определяет события, происходящие на первых этапах развития. Гены, работающие таким образом, называют **генами материнского эффекта**.

Для организации асимметричной структуры яйца нематоды особенно важна одна подгруппа генов материнского эффекта. Их называют генами *Par* (*Partitioning-defective*), по крайней мере шесть таких генов были найдены в ходе генетического скрининга мутантов, у которых была нарушена структура яйца. Гены *Par* имеют гомологов у насекомых и позвоночных, где они играют фундаментальную роль в организации полярности клеток, о чем говорилось в главе 19. Фактически одним из ключей к нашему теперешнему пониманию общих механизмов полярности клетки послужило открытие этих генов в ходе изучения ранних стадий развития *C. elegans*.

В яйце нематоды, впрочем, как и в остальных клетках нематод и иных животных, белки *Par* (продукты генов *Par*) сами по себе расположены асимметрично: одни в одном конце клетки, другие — в другом. В яйце они нужны для того, чтобы доставлять группу рибонуклеопротеидных частиц, называемых *P-гранулы* к заднему полюсу так, чтобы задняя дочерняя клетка наследовала *P-гранулы*, а передняя дочерняя клетка не наследовала их. На протяжении нескольких последующих делений клеток белки *Par* работают подобным же образом, ориентируя митотическое веретено деления и отделяя *P-гранулы* одной дочерней клетки в каждом митозе, до тех пор, пока на 16-клеточной стадии не остается только одна клетка, содержащая *P-гранулы* (рис. 22.19). Эта единственная клетка и основывает линию половых клеток.

Специализация предшественников зародышевых клеток с появлением у них отличий от предшественников соматических клеток — ключевое событие в развитии

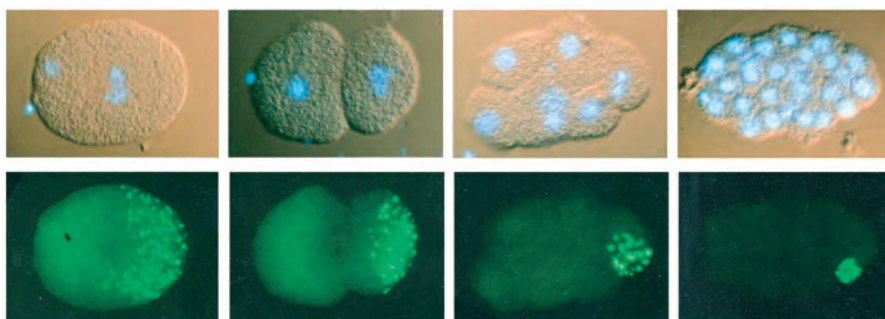


Рис. 22.19. Асимметричные деления, обуславливающие распределение *P-гранул* в клетке-основательнице зародышевой линии у *C. elegans*. На микрофотографиях в верхнем ряду показана схема деления клеток; ядра клеток окрашены в *синий* цвет специфичным к ДНК флуоресцентным красителем; ниже показаны те же самые клетки, окрашенные антителом к *P-гранулам*. В неоплодотворенном яйце (не показано) эти маленькие гранулы (0,5–1 мкм в диаметре) распределяются случайным образом по всей цитоплазме. После оплодотворения, при каждом делении клетки вплоть до 16-клеточной стадии и они, и внутриклеточные машины, которые регулируют их асимметричную локализацию, наследуются одной дочерней клеткой. (Изображения любезно предоставлены Susan Strome.)

фактически всех видов животных, и этот процесс имеет общие черты даже среди животных, относящихся к типам, для которых характерно весьма разное строение тела. Так, у дрозофилы частицы, подобные Р-гранулам, также отделяются в один конец яйца и включаются в содержимое клеток-предшественниц половой линии, где и определяют путь их дальнейшей дифференцировки. Подобные явления наблюдаются у рыб и лягушек. У представителей всех видов этих животных можно найти по крайней мере некоторые одинаковые белки в определяющем зародышевые клетки материале, в том числе гомологи связывающегося с РНК белка, называющегося *Vasa*. Как работает *Vasa* и родственные ему белки, а также молекулы РНК, в процессе определения клеток половой линии, все еще не известно.

22.2.4. За счет межклеточных взаимодействий создаются последовательно усложняющиеся структуры организма

Яйцо *C. elegans*, равно как и других животных, представляет собой необычайно крупную клетку, обладающую достаточным пространством для формирования сложных внутренних структур. Вдобавок к Р-гранулам под управлением белков *Par* и другие факторы распределяются упорядоченным образом вдоль его передне-задней оси и таким образом расходятся по разным клеткам по мере того, как яйцо проходит свои первые несколько циклов деления. Эти деления происходят без роста (так как питание не может начаться, пока не сформируются рот и кишечный тракт), и поэтому яйцо дробится на все более мелкие клетки. Несколько из этих локализованных в пространстве факторов являются регулирующими гены белками, которые работают непосредственно в унаследовавшей их клетке и возбуждают или блокируют экспрессию определенных генов, тем самым усиливая отличия этой клетки от ее соседей и направляя ее на специализированный путь дифференцировки.

Если первые немногие различия между клетками вдоль передне-задней оси *C. elegans* проистекают из асимметричных делений, то дальнейшее конфигурирование, а в том числе и схема расположения типов клеток по другим осям, зависит уже от межклеточных взаимодействий. Клеточные линии в зародыше настолько воспроизводимы, что отдельным клеткам можно присвоить названия и опознавать их потом в каждом животном (рис. 22.20); к примеру, клетки на четырехклеточной стадии развития называют АВ_а и АВ_в (две передние сестринские клетки) и EMS и P₂ (две задние сестринские клетки). В результате асимметричных делений, которые мы только что описали, клетка P₂ экспрессирует сигнальный белок и выставляет его на свою поверхность — присущий нематод гомолог белка *Delta* (лиганда белка *Notch*), — тогда как клетки АВ_а и АВ_в экспрессируют соответствующий трансмембранный рецептор — гомолог белка *Notch*. Продолговатая форма оболочки яйца обуславливает такое расположение этих клеток, что наиболее передняя клетка, АВ_а, и наиболее задняя клетка, P₂, больше не находятся в контакте друг с другом. Таким образом, только клетка АВ_в получает сигнал от клетки P₂, в итоге чего клетка АВ_в начинает отличаться от клетки АВ_а и намечается будущая дорсально-вентральная ось червя (рис. 22.21).

В то же самое время клетка P₂ экспрессирует также и другую сигнальную молекулу, белок *Wnt*, который воздействует на рецептор белка *Wnt* (белок *Frizzled*), размещенный в мембране клетки EMS. Этот сигнал поляризует клетку EMS относительно ее участка контакта с клеткой P₂, управляя ориентацией митотического веретена деления. После этого клетка EMS делится и дает две дочерние клетки, которые направляются на разные пути дифференцировки в результате действия

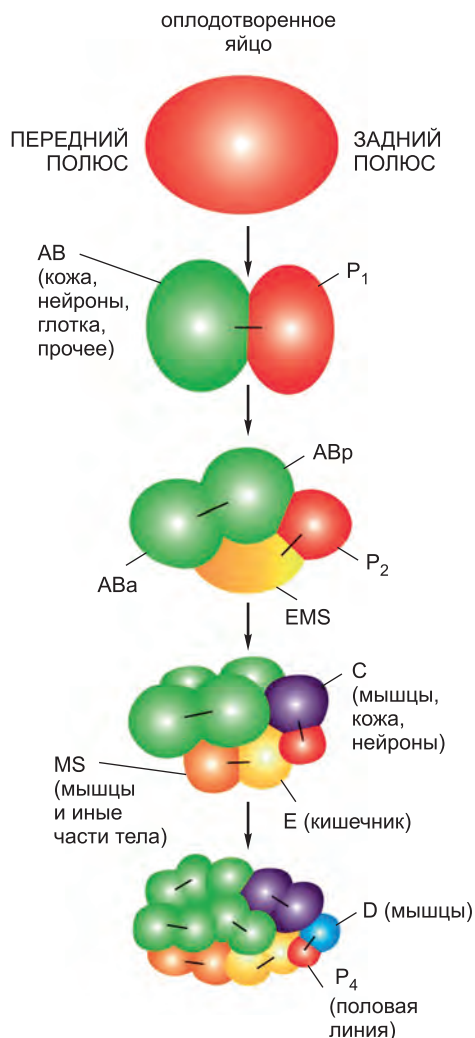


Рис. 22.20. Схема делений клеток в зародыше *C. elegans* на ранних стадиях развития; обозначены названия и пути дифференцировки отдельных клеток. Короткие черные линии соединяют сестринские клетки. (Переработано на основе K. Kemphues, *Cell* 101: 345–348, 2000. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

сигнала Wnt от клетки P₂. Одна дочерняя клетка, MS, даст начало мышцам и другим частям тела; другая дочерняя клетка, E, является клеткой-основательницей кишечника, направленной исключительно на порождение всех клеток кишечного тракта (см. рис. 22.21).

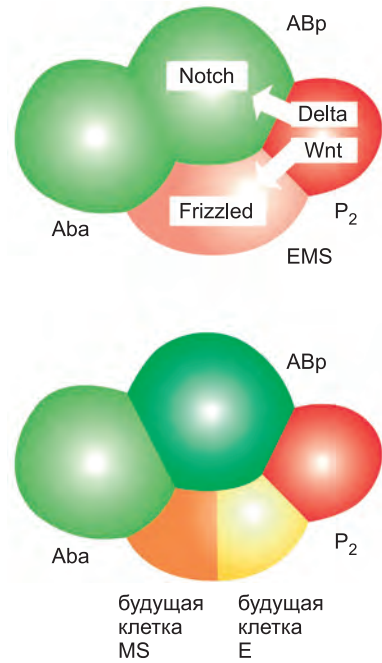
Набросав абрис причинно-следственной цепи в зародыше нематоды на ранних стадиях развития, сейчас мы рассмотрим некоторые из методов, которые использовались для ее расшифровки.

22.2.5. Микрохирургия и генетика раскрывают логику контроля развития, клонирование и секвенирование генов — его молекулярные механизмы

Чтобы открыть причинные механизмы, нам нужно знать потенциал развития отдельно взятых клеток зародыша, то есть ответить на следующий вопрос: в каких схему своей жизни они подвергаются решающим внутренним изменениям, которые определяют их к конкретному пути дифференцировки, и когда они зависят от сигналов других клеток? В нематоде при помощи

лазерной микроручековой микрохирургии можно точно убивать одного и более соседей выбранной клетки и затем непосредственно наблюдать, как эта клетка поведет себя в изменившихся обстоятельствах. Альтернативно: клетки зародыша на ранних этапах развития можно передвигать и перестраивать внутри оболочки яйца посредством тонкой иглы. Например, относительные положения клеток АВa и АВр можно поменять местами на четырехклеточной стадии развития. Тогда клетка АВa идет по обычному пути дифференцировки клетки АВр, и наоборот; это показывает, что данные две клетки изначально имеют один и тот же потенциал развития и зависят от посылаемых соседними клетками сигналов, которые и обуславливают их различия. Третья тактика состоит в удалении яйцевой оболочки с зародыша *C. elegans* на ранней стадии развития, путем переваривания ее ферментами, и дальнейшем манипулировании клетками в культуре. Существование поляризирующего сигнала от клетки P₂ к клетке EMS выявлено как раз этим способом.

Рис. 22.21. Пути передачи межклеточных сигналов, управляющие назначением клеткам различных характеров в четырехклеточном зародыше нематоды. Клетка P_2 использует сигнальный путь Notch, чтобы послать индуктивный сигнал клетке ABp, заставляя ее принять специализированный характер. У клетки ABa есть весь молекулярный аппарат, чтобы реагировать таким же образом на тот же сигнал, но она не делает этого, потому что находится вне контакта с клеткой P_2 . Тем временем сигнал Wnt от клетки P_2 заставляет клетку EMS ориентировать свое митотическое веретено деления и произвести две дочерние клетки, которые направляются на разные пути дифференцировки в силу их разной подверженности действию белка Wnt, — клетку MS и клетку E (клетку-основательницу кишечника).



С целью определения генов, вовлеченных во взаимодействие клеток P_2 и EMS, применяли генетический скрининг. Проводили поиск мутантных линий червей, у которых не индуцировалось ни одной клетки кишечника (названных мутантами *Mom*, потому что они имели больше (*more*) мезодермы (*mesoderm*), так как при нарушении индукции конечной целью дифференцировки обеих дочерей клетки EMS является мезодерма). Клонирование и секвенирование генов *Mom* показало, что один из них кодирует сигнальный белок Wnt, который экспрессируется в клетке P_2 , тогда как другой кодирует белок Frizzled (рецептор белка Wnt), который экспрессируется в клетке EMS. Второй генетический скрининг проводили для поиска мутантных линий червей с противоположным фенотипом, у которых индуцируются лишние клетки кишечника (названных мутантами *Pop* по причине нарушения развития задней глотки (*posterior pharynx*)). Оказалось, что один из генов *Pop* (*Pop1*) кодирует регуляторный белок (гомолог LEF1/TCF), активность которого у *C. elegans* подавляется в ответ на сигнал Wnt. Когда активность белка *Pop1* отсутствует, обе дочерние клетки EMS ведут себя, как если бы они получили сигнал Wnt от клетки P_2 . Подобные генетические методы применяли и для определения генов, продукты которых опосредствуют зависимый от белка Notch сигнальный путь от клетки P_2 к клетке ABa.

Продвигаясь дальше по этому пути, можно выстроить детальную картину решающих событий в ходе развития нематоды, а также генетически детерминированных механизмов, которые этими событиями управляют.

22.2.6. Со временем способность клеток реагировать на связанные с развитием сигналы изменяется

Сложность организма взрослой нематоды достигается за счет повторного включения немногих формообразующих механизмов, в том числе тех, которые мы только что видели в действии на примере зародыша, делающего первые шаги в этой жизни. К примеру, клеточные деления с молекулярной асимметрией, зависящей от регулирующих генов белков *Pop1*, происходят на протяжении всего развития *C. elegans*, создавая передние и задние сестринские клетки с разными свойствами.

Как подчеркивалось ранее, хотя в разное время и в разных местах неоднократно действует один и тот же набор сигналов всего лишь нескольких типов, эффекты, которые они оказывают, отличаются между собой, потому что клетки запрограммированы реагировать на эти сигналы по-разному, в зависимости от их возраста и предыстории. Так, например, мы видели, что на четырехклеточной стадии развития зародыша одна клетка, АВр, изменяет свой потенциал развития из-за сигнала, полученного через путь Notch. На 12-клеточной же стадии развития и внучки клетки АВр, и внучки клетки АВа получают еще один сигнал Notch, на сей раз от дочерней клетки EMS. Внучка клетки АВа в ответ на этот сигнал изменяет свое внутреннее состояние и начинает формировать глотку. Внучка же клетки АВр ничего такого не делает — в результате действия предыдущего сигнала Notch она стала неотзывчивой к нему. Таким образом, в разное время своей истории и клетки линии АВа, и клетки линии АВр реагируют на сигнал Notch, но исходы разнятся. Так или иначе, на 12-клеточной стадии сигнал Notch индуцирует образование глотки, но на 4-клеточной стадии тот же сигнал Notch оказывает уже другие воздействия, в числе которых и предотвращение индукции глотки сигналом Notch на более поздней стадии развития. Данное явление, когда один и тот же сигнальный механизм на разных стадиях развития и в разных контекстах вызывает разные последствия, — наблюдается в развитии всех животных, и у всех них сигнальный механизм Notch используется неоднократно и действует подобным же образом.

22.2.7. Гетерохронные гены управляют временным режимом развития

Для изменения клетке не обязательно нужен какой-либо внешний стимул: одна группа регуляторных молекул внутри самой клетки может вызвать производство другой группы, и клетка может таким образом проходить через ряд различных состояний за счет своих собственных внутренних механизмов. Эти состояния отличаются не только по способности клетки к реагированию на внешние сигналы, но также и в других отношениях их внутренней химии, в том числе по наличию или отсутствию белков, которые останавливают или запускают цикл деления клетки. Таким образом, внутренние механизмы клетки, наряду с полученными в прошлом и получаемыми в настоящем сигналами, диктуют как последовательность биохимических изменений в клетке, так и хронологию ее делений.

Определенные молекулярные детали механизмов, управляющих временной программой развития, все еще лежат под покровом тайны. Например, удивительно мало известно (даже в отношении зародыша нематоды при всей его надежно предсказуемой схеме клеточных делений) о том, каким образом управляется последовательность делений клеток. Однако для более поздних стадий развития, когда личинка уже кормится, растет и линяет, чтобы поскорее стать взрослой особью, удалось определить хотя бы некоторые из генов, которые управляют контролем клеточных событий во времени. Мутации в этих генах порождают *гетерохронные* фенотипы: клетки в личинке на одной стадии ведут себя так, как если бы они принадлежали личинке на другой стадии, или же клетки во взрослом организме продолжают делиться, как если бы они все еще пребывали в личинке (рис. 22.22).

При помощи серии процедур генетического анализа можно установить, что продукты гетерохронных генов действуют последовательно, формируя регуляторные каскады. Любопытно, что два гена, начинающие свои каскады, названные *Lin4* и *Let7*, кодируют не белки, а микроРНК — короткие нетранслируемые молекулы

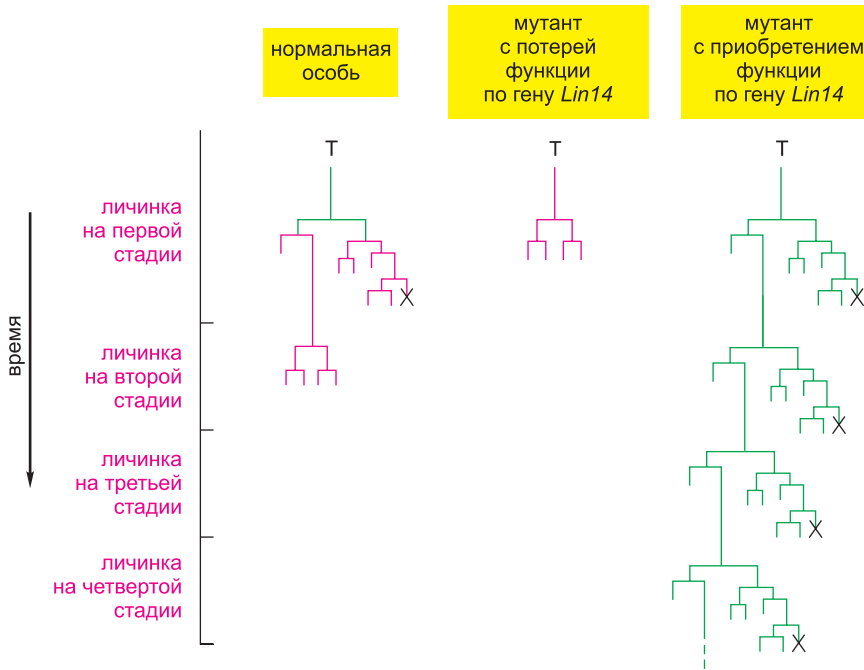


Рис. 22.22. Гетерохронные мутации в гене *Lin14* у *C. elegans*. Здесь показаны воздействия только на одну из многих затронутых линий. Мутация потери функции (рецессивная) в гене *Lin14* вызывает преждевременное срабатывание схемы деления и дифференцировки клеток, характерной для поздней личинки, так что животное достигает своего конечного состояния преждевременно и с неестественно малым числом клеток. Мутация приобретения новой функции (доминантная) имеет противоположный эффект — она заставляет клетки вновь повторять схемы деления, характерные для первой личиночной стадии, в силу чего личинка проходит целых пять или шесть циклов линьки и продолжает оставаться на стадии изготовления кутикулы незрелого типа. Крестик обозначает запрограммированную смерть клетки. *Зеленые линии* представляют клетки, содержащие белок *Lin14* (который связывается с ДНК), *красные линии* — те, что его не содержат. В ходе нормального развития личинки к началу ее питания запускается изъятие белка *Lin14* из протеома. (Переработано на основе V. Ambros and H. R. Horvitz, *Science* 226: 409–416, 1984, с любезного разрешения издательства AAAS, и P. Arasu, B. Wightman and G. Ruvkun, *Growth Dev. Aging* 5: 1825–1833, 1991, с любезного разрешения издательства Growth Publishing Co.)

регуляторной РНК, длиной в 21 или 22 нуклеотида. Принцип их действия основан на том, что они связываются с комплементарными последовательностями в некодирующих областях молекул мРНК, транскрибируемых с других гетерохронных генов, и таким образом ингибируют их трансляцию и способствуют их деградации, как описано в главе 7. Повышение уровня РНК гена *Lin4* влечет за собой переход от поведения клетки, соответствующего личиночной стадии 1, к поведению клетки, характерному для личиночной стадии 3; повышение уровня РНК гена *Let7* обуславливает переход от поздней личинки ко взрослой особи. Фактически РНК генов *Lin4* и *Let7* были первыми микроРНК, описанными у какого-либо животного: именно в ходе исследований *C. elegans* методами генетики развития и была открыта вся важность этих молекул, образующих целый класс, для регуляции генов у животных.

У многих других видов, в том числе у дрозофилы, аквариумной рыбки данио и человека, обнаружены молекулы РНК, идентичные или почти идентичные РНК

гена *Let7*. Более того, оказалось, что эти РНК действуют подобным ей образом при регулировании уровня своих молекул-мишеней и РНК, и сами цели гомологичны целям РНК гена *Let7* нематоды. У дрозофилы эта система молекул, как видно, участвует в процессе превращения личинки в муху, что говорит о консервативности ее роли в деле временной регуляции переходов между стадиями развития.

22.2.8. Клетки не отсчитывают число клеточных делений и, следовательно, не хронометрируют свои внутренние программы таким способом

Так как шаги специализации клеток должны быть согласованы с делениями клеток, часто высказывают предположение о том, что цикл деления клетки может служить хронометром, позволяющим управлять темпом других событий в процессе развития. По этому представлению изменения внутреннего состояния клетки должны быть тесно связаны с прохождением через каждый цикл деления: клетка переходила бы в следующее состояние при прохождении митоза. Хотя действительно известны некоторые случаи, где изменения состояния клетки связаны с событиями клеточного цикла, но это далеко не общее правило. Клетки в развивающихся зародышах, будь это черви, мухи или позвоночные, обычно придерживаются своего стандартного расписания событий предопределения и дифференцировки, даже когда прохождение через клеточный цикл искусственно блокируется. Конечно, возникают некоторые аномалии хотя бы потому, что одиночная неразделенная клетка не может дифференцироваться по двум путям сразу. Но в большинстве из всех изученных случаев видно, что клетка изменяет свое состояние по расписанию, более или менее независимо от событий ее деления, причем такие изменения состояний управляют и решением делиться, и выбором в отношении того, когда и как специализироваться.

22.2.9. Избирательная гибель определенных клеток путем апоптоза входит в программу развития организма

Регулирование численности клеток в ходе развития может осуществляться и посредством принудительной гибели клеток, а не только путем их поощрения к делению. Гермафродит *C. elegans* в ходе своего развития производит 1030 ядер соматических клеток, но 131 клетка из их числа умирает. Эти запрограммированные смерти клеток происходят по абсолютно предсказуемой схеме. В отношении *C. elegans* можно составить подробнейшую их хронику, потому что возможно проследить путь дифференцировки каждой отдельно взятой клетки и увидеть, которые из них умирают, пронаблюдав за тем, как каждая жертва самоубийства подвергается апоптозу и быстро поглощается и переваривается соседними клетками (рис. 22.23). У других организмов, где провести тщательное наблюдение гораздо труднее, такие случаи легко остаются незамеченными; но запрограммированная смерть путем апоптоза, вероятно, неизбежна для значительной части клеток, образующихся в организмах большинства животных. Поэтому апоптоз играет существенную роль в процессе развития индивидуума, у которого клетки нужного типа разрастаются до заданного числа и занимают надлежащие места в организме, как обсуждалось в главе 18.

Генетические скрининги *C. elegans* оказались критически важными для нахождения генов, регулирующих апоптоз, и еще раз показали его неопределимое значение

Рис. 22.23. Апоптотическая смерть клетки *C. elegans*. Наступление смерти зависит от экспрессии генов *Ced3* и *Ced4* при отсутствии экспрессии гена *Ced9* в самой умирающей клетке. Следующие за ней акты поглощения и устранения ее остатков зависят от экспрессии других генов в соседних клетках.

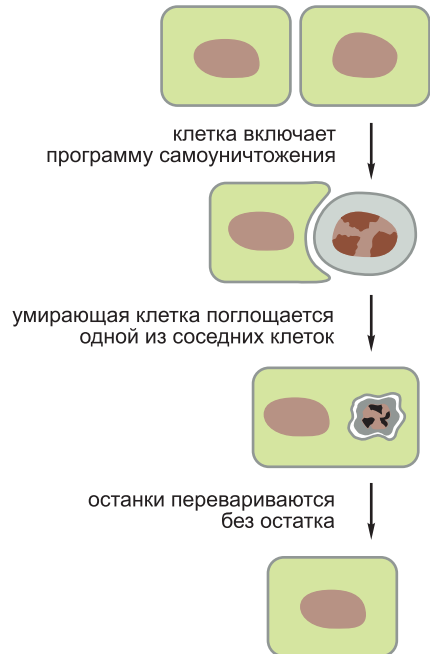
для развития. Как установлено, для наступления нормальной смерти ста тридцати одной клетки необходимы три гена, названные *Ced3*, *Ced4* и *Egl1* (*Ced* образовано от *cell death abnormal*). Если эти гены инактивированы мутацией, то клетки, которые в норме обречены на смерть, вместо этого выживают и дифференцируются на клетки узнаваемых типов — например, на нейроны. И наоборот, сверхэкспрессия этих генов или их экспрессия в ненадлежащем месте влечет за собой гибель большого числа клеток, которые в норме продолжали бы жить, причем тот же эффект наблюдали и при мутациях, инактивирующих другой ген, *Ced9*, который обычно подавляет программу смерти.

Все эти гены кодируют консервативные компоненты механизмов умерщвления клеток. Как описывается в главе 18, ген *Ced3* кодирует гомолог каспазы, тогда как гены *Ced4*, *Ced9* и *Egl1* суть соответственно гомологи генов *Apaf1*, *Bcl2* и *Bad*. Без знаний, полученных в ходе детального анализа развития прозрачной и удобной для генетиков нематоды, было бы намного сложнее открыть эти гены и понять процесс запрограммированной смерти клеток у позвоночных.

Заключение

Развитие маленького, относительно простого, прозрачного червя *Caenorhabditis elegans* необычайно воспроизводимо и описано в виде подробной хроники, так что у всех особей одна и та же клетка в любом данном положении в теле характеризуется одной и той же линией, и эта линия полностью известна. Также его геном полностью секвенирован. Таким образом, для расшифровки механизмов развития *Caenorhabditis elegans* могут быть объединены мощные генетические и микрохирургические подходы. Как и у других организмов, развитие данного червя зависит от хитросплетения путей межклеточных взаимодействий и от автономных внутриклеточных процессов. Развитие начинается с асимметричного деления оплодотворенного яйца, в результате которого оно дробится на две меньшие клетки, содержащие разные детерминанты целей дифференцировки клеток. Потомки этих клеток взаимодействуют через пути передачи межклеточных сигналов *Notch* и *Wnt*, за счет чего возникают группы клеток с более разнообразным множеством состояний. Тем временем в ходе дальнейших асимметричных делений одна клетка наследует от яйца материалы, которые еще на ранней стадии развития предопределяют ее как прародительницу половой линии.

Генетические скрининги дают возможность найти группы генов, отвечающие за эти и более поздние стадии развития, а в их числе, например, гены



запрограммированной смерти клеток, управляющие апоптозом определенной подгруппы клеток в ходе нормальной программы развития. Также обнаружены гетерохронные гены, которые управляют временным контролем событий, связанных с развитием, хотя в общем и целом наше понимание управления развитием во времени все еще довольно приблизительно. Однако есть надежные данные о том, что темп развития не зависит от счетчика клеточных делений.

22.3. Дрозофила и молекулярная генетика образования тканевых структур: формирование общего плана строения тела

Именно мушка *Drosophila melanogaster* (рис. 22.24), больше чем любой другой организм, изменила наши представления о том, как гены управляют созданием плана строения тела. Анатомия дрозофилы сложнее таковой у *C. elegans* — при более чем в 100 раз большем числе клеток она показывает более очевидные параллели со структурой нашего собственного тела. Удивительно, но плодовая мушка имеет меньше генов, чем круглый червь *C. elegans*, — приблизительно 14 000 против 20 000. С другой стороны, на один ген у нее приходится почти вдвое больше ДНК (в среднем примерно 10 000 нуклеотидов по сравнению с примерно 5 000), поскольку большая часть ее генома представляет собой некодирующие последовательности. Иными словами, в этом молекулярном конструкторе меньше деталей разных типов, но инструкции по сборке — по крайней мере прописанные в регуляторных последовательностях некодирующей ДНК, — описывают модель более пространно.

Десятилетия генетических исследований, достигшие наивысшей точки в массовых систематических генетических скринингах, дали каталог управляющих развитием генов, которые определяют взаимное расположение клеток определенных типов и пространственную конфигурацию структур тела мухи, а молекулярная биология дала нам инструменты, позволяющие наблюдать эти гены в действии. С помощью гибридизации *in situ* с применением ДНК- или РНК-зондов, проводимой на целых зародышах, или при помощи окрашивания мечеными антителами с целью проявления картины распределения определенных белков, можно непосредственно наблюдать, как в ходе развития

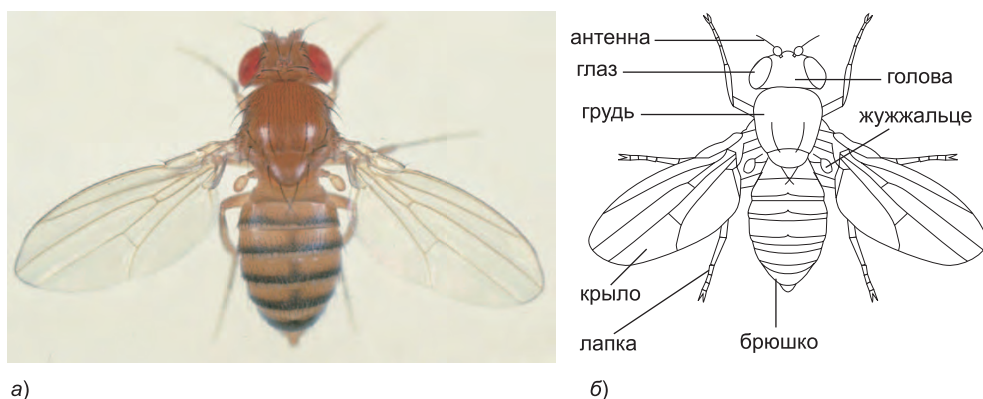


Рис. 22.24. *Drosophila melanogaster*. Нормальная взрослая муха, вид со спины. а) Фотография. б) Помеченный подписями рисунок. (Фотоснимок любезно предоставлен E. V. Lewis.)

внутренние состояния клеток задаются группами регуляторных генов, экспрессируемых ими в разное время. Более того, прибегнув к анализу животных, представляющих собой мозаики мутантных и немутантных клеток, можно установить принцип работы каждого гена как компонента системы, определяющей организацию всего тела.

Оказалось, что в большинстве своем гены, управляющие строением тела дрозофилы, имеют близкие аналоги у высших животных, включая и нас с вами. Фактически многие из основных механизмов, предназначенных для задания общего строения организма и формирования структур отдельных органов и тканей, на удивление, подобны друг другу. Так, к удивлению многих, плодовая мушка стала ключом к пониманию молекулярной генетики нашего собственного развития.

Плодовые мушки, как и нематоды, идеальны для генетических исследований: дешевы в разведении, легко поддаются мутагенезу и имеют короткий репродуктивный цикл. Но есть гораздо более фундаментальная причина, по которой они столь важны для генетики развития. Как подчеркивалось ранее, в результате массовых дупликаций генов геномы позвоночных часто содержат два или три гомологичных гена, соответствующих единственному гену у мухи. Очень часто мутация, которая разрушает один из этих генов, не в состоянии показать основную функцию этого гена, потому что остальные гомологи делят с ним эту функцию и остаются активными. У мухи с ее более экономичным набором генов такое явление генетической избыточности проявляется в меньшей степени. Поэтому фенотип мухи с одной-единственной мутацией чаще дает возможность непосредственно раскрывать функцию этого мутантного гена.

22.3.1. Тело насекомого построено в виде ряда сегментных единиц

Хронология развития дрозофилы от яйца до взрослого насекомого показана на рис. 22.25. Период эмбрионального развития начинается с оплодотворения и занимает приблизительно один день, на закате которого зародыш вылупляется из яйца и становится личинкой. Далее личинка проходит через три стадии развития, или *возрастные стадии*, отделенные линьками, при которых она сбрасывает свои старые покровы — кутикулу — и покрывается оболочкой большего размера. В конце третьей возрастной стадии личинка окукливается. В *куколке* происходит радикальная перестройка организма — процесс, называемый *превращением*, или *метаморфозом*. В конечном счете спустя приблизительно девять дней после оплодотворения на свет появляется взрослая муха, или *имаго*.

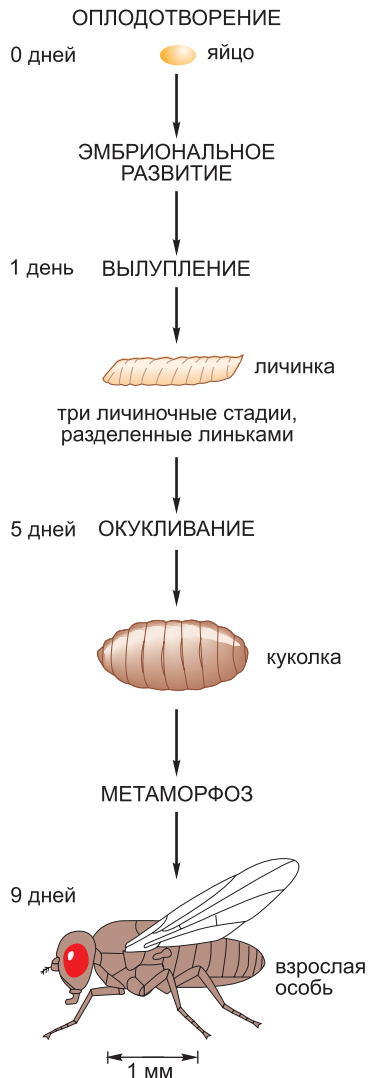


Рис. 22.25. Общая схема развития дрозофилы из яйца во взрослую особь.

Тело мухи состоит из головы, со ртом, глазами и антеннами, за которой следуют три грудных сегмента (номера T1–T3) и восемь или девять брюшных сегментов (номера A1–A9). Каждый сегмент, хотя и отличается от других, построен согласно единообразному плану. Сегмент T1, например, несет пару ног, сегмент T2 несет пару ног и пару крыльев, а сегмент T3 несет пару ног и пару жужжалец (гальтер) — маленьких булавовидных органов равновесия, важных в полете и развитых в ходе эволюции из второй пары крыльев, наличествующей у более примитивных насекомых. Квазиповторная сегментация развивается в раннем зародыше в течение первых нескольких часов после оплодотворения (рис. 22.26), но более четко прослеживается в личинке (рис. 22.27), у которой эти сегменты больше походят один на другой, чем у взрослого насекомого. В зародыше можно увидеть, что рудименты головы, по крайней мере соответствующие будущим частям ротового аппарата взрослого насекомого подобным же образом являются сегментированными. Однако на

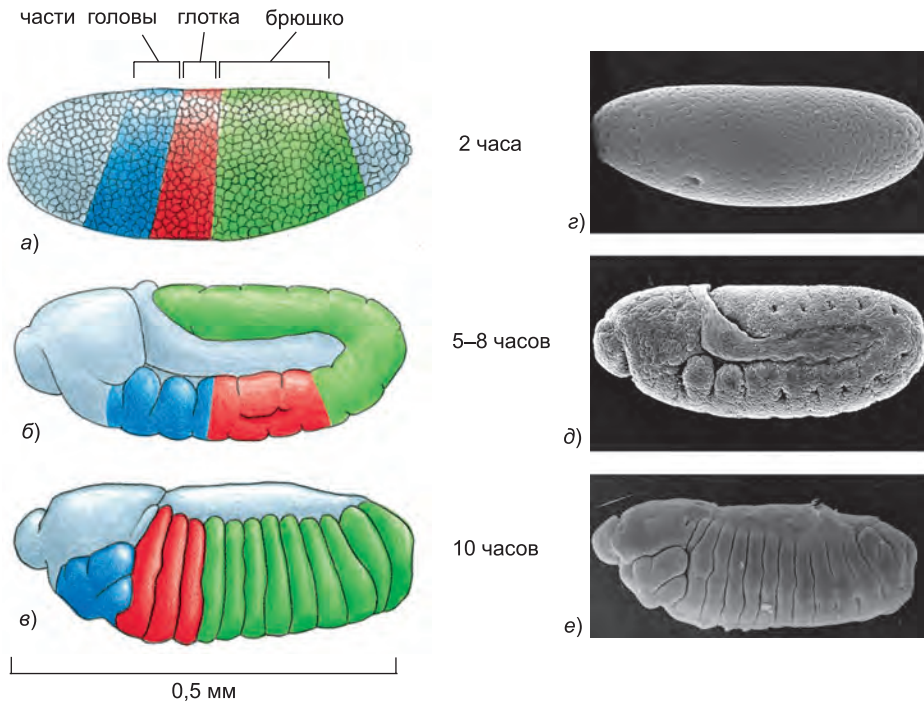


Рис. 22.26. Появление сегментов тела дрозофилы в ходе эмбрионального развития. Зародыши показаны в виде рисунков в боковой проекции (а–в) и на соответствующих растровых микрофотоснимках (г–е). а и г) В возрасте двух часов зародыш находится на стадии синцитиальной бластодермы (см. рис. 22.28), и не видно никаких признаков сегментации, хотя уже можно составить карту зачатков, показывающую будущие сегментированные области (обозначены цветом на рисунке а). б и д) В возрасте 5–8 часов зародыш находится на стадии вытянутой зародышевой полоски: произошла гастрюляция, начала проглядывать сегментация и сегментированная ось тела удлинчилась, загнувшись на заднем конце назад, чтобы вписаться в оболочку яйца. в и е) В возрасте десяти часов ось тела сжалась и снова стала прямой, а сегменты приобрели отчетливые очертания. Структуры головы, видимые снаружи на этой стадии, впоследствии окажутся втянутыми внутрь тела личинки и выйдут наружу только тогда, когда личинка будет проходить стадию окукливания на пути к окончательному взрослению. (Снимки г и д заимствованы из F. R. Turner and A. P. Mahowald, *Dev. Biol.* 50: 95–108, 1976; фотография е взята из J. P. Petschek, N. Perrimon and A. P. Mahowald, *Dev. Biol.* 119: 175–189, 1987. И та и другая с любезного разрешения издательства Academic Press.)

обоих концах животного имеются высокоспециализированные концевые структуры, которые образуются не сегментным механизмом.

Границы между сегментами традиционно определяют по видимым анатомическим маркерам; но в контексте картин экспрессии генов часто бывает удобно рисовать иной набор сегментных границ, обозначив ряд сегментных единиц, называемых *парасегментами*, которые на полсегмента сдвинуты относительно шкалы традиционных делений (см. рис. 22.27).

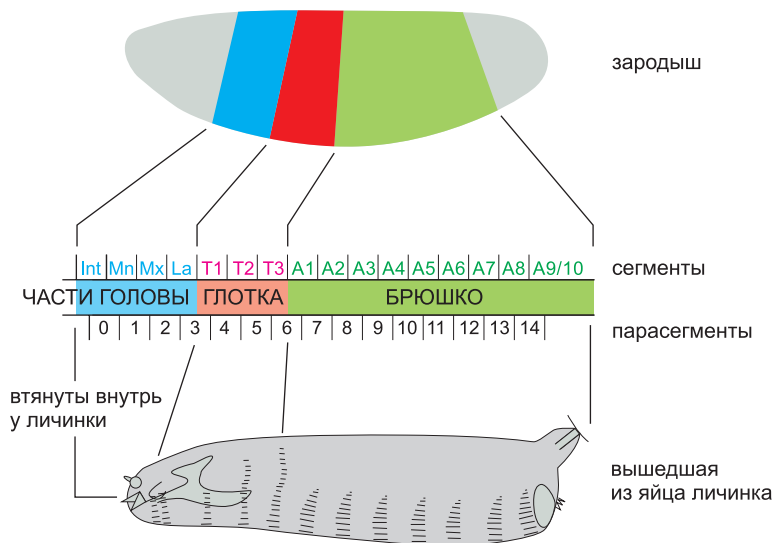


Рис. 22.27. Сегменты личинки дрозофилы и их соответствие областям бластодермы. Части зародыша, которые будут организованы в сегменты, показаны в цвете. Концы зародыша, затянутые серой мглой, не сегментированы и вворачиваются внутрь тела, где формируют внутренние структуры головы и кишечника. (Будущие внешние сегментированные структуры взрослой головы также временно втягиваются внутрь на стадии личинки.) Сегментация тела дрозофилы может быть описана посредством сегментов или парасегментов: соотношение между ними представлено в средней части рисунка. Нередко парасегменты обнаруживают более простое соответствие картинам экспрессии генов. Точное число брюшных сегментов спорно: восемь определяются четко, а девятый достаточно присутствует у личинки, но отсутствует у взрослого насекомого.

22.3.2. Дрозофила начинает свое развитие с синцития

Яйцо дрозофилы имеет приблизительно 0,5 мм в длину и 0,15 мм в диаметре и обладает четко выраженной полярностью. Подобно яйцам других насекомых, но в отличие от зародышей большинства позвоночных, она начинает свое развитие необычным способом: в результате серии ядерных делений без разделения самой клетки образуется синцитий. Начальные ядерные деления синхронны и чрезвычайно быстры, они происходят каждые 8 минут. Первые девять делений производят скопление ядер, большинство которых мигрирует из середины яйца к поверхности, где они формируют монослой, названный *синцитиальной бластодермой*. После следующих четырех циклов ядерного деления, от поверхности яйца внутрь растут плазматические мембраны и охватывают каждое ядро; таким образом синцитиальная бластодерма преобразуется в *клеточную бластодерму*, состоящую приблизительно из 6000 отдельных клеток (рис. 22.28). Около 15 ядер, населяющих самый кончик

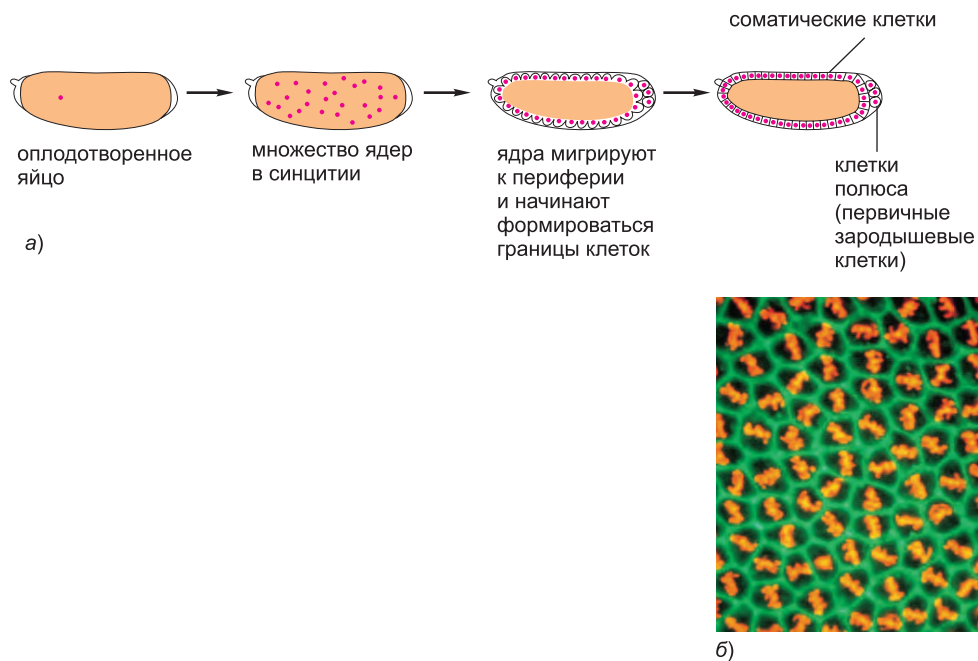


Рис. 22.28. Развитие яйца дрозофилы от оплодотворения до стадии клеточной бластодермы. а) Схематические рисунки. б) Вид поверхности — фотография оптического среза ядер бластодермы, претерпевающих митоз при переходе от стадии синцитиальной бластодермы к стадии клеточной бластодермы. Актин окрашен в *зеленый* цвет, хромосомы — в *оранжевый*. (Изображения а переработаны на основе Н. А. Schneiderman, in *Insect Development* [P. A. Lawrence, ed.], pp. 3–34. Oxford, UK: Blackwell, 1976; снимок б любезно предоставлен William Sullivan.)

заднего конца яйца, обособляются в клетки несколькими циклами ранее; эти *полюсные клетки* являются предшественницами половой линии (первичными половыми клетками), которые дадут начало яйцеклеткам или сперматозоидам.

От самого начала и до стадии клеточной бластодермы развитие зависит во многом — хотя и не исключительно, — от молекулярных запасов материнских мРНК и белка, которые накоплены в яйце еще до оплодотворения. Высочайшая скорость репликации ДНК и деления ядер, очевидно, предполагает не особо благоприятные условия для протекания транскрипции. После разделения бластодермы деление клеток продолжается более обычным образом — асинхронно и с меньшей скоростью — и транскрипция резко набирает обороты. Гастрюляция начинается незадолго до завершения разделения на клетки, когда части слоя клеток, формирующие наружные покровы зародыша, начинают подворачиваться внутрь, чтобы сформировать кишечник, мускулатуру и относящиеся к ним внутренние ткани. Немного позже и в другой области зародыша обособленная группа клеток перемещается с поверхностного эпителия внутрь, чтобы сформировать центральную нервную систему. Отмечая положения клеток и следуя за ними через все эти различные перемещения, можно составить карту зачатков для монослоя клеток на поверхности бластодермы (**рис. 22.29**).

Когда гастрюляция близится к завершению, на поверхности зародыша возникает ряд бороздок и выпуклостей, отмечающих подразделение тела на сегменты по его

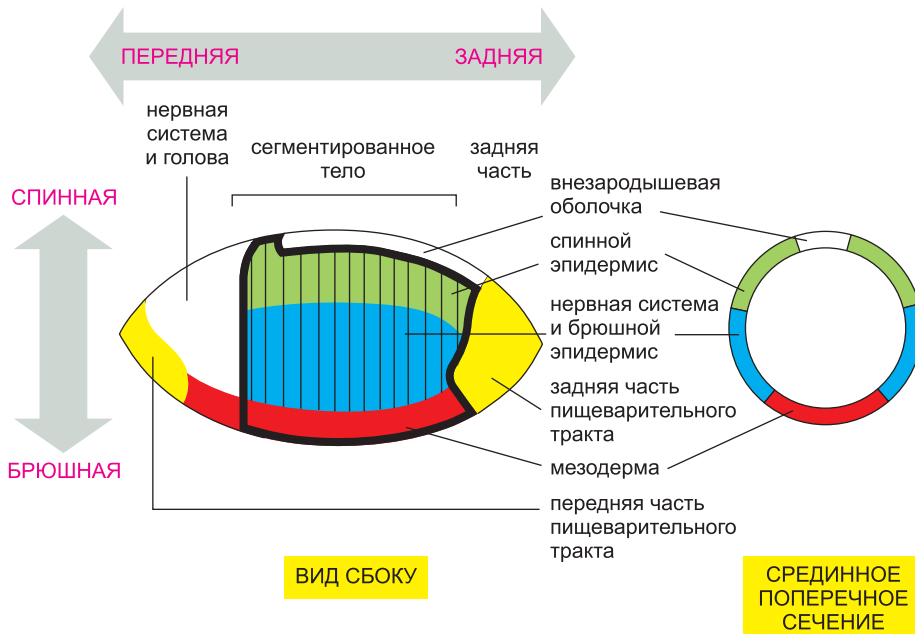


Рис. 22.29. Карта зачатков у зародыша дрозофилы на стадии клеточной бластомеры. Зародыш представлен в боковой проекции и в поперечном сечении — показаны отношения между разделением вдоль дорсо-вентральной оси на будущие ткани основных типов и схемой расположения будущих сегментов вдоль передне-задней оси. Толстая линия охватывает область, в которой сформируются сегментные структуры. В течение гастрюляции образующие мезодерму клетки впячиваются по вентральной средней линии, тогда как клетки, предопределенные к формированию кишечника, впячиваются с двух сторон, с концов зародыша. (По мотивам V. Hartenstein, G. M. Technau and J. A. Campos-Ortega, *Wilhelm Roux' Arch. Dev. Biol.* 194: 213–216, 1985. С разрешения издательства Elsevier.)

передне-задней оси (см. рис. 22.26). Вскоре после этого появляется полностью сегментированная личинка, готовая начать самостоятельное питание и тронуться в рост. В теле личинки имеются маленькие группы клеток, которые остаются явно недифференцированными и образуют структуры, названные *имагинальными дисками*. Они будут расти по мере роста личинки и в конечном счете, как мы увидим позже, дадут начало большинству структур взрослого организма.

Головной и хвостовой концы, вентральная (брюшная) сторона и дорсальная (спинная) сторона, кишечник, нервная система, ряд сегментов тела — все это составляющие общего плана строения организма, которые дрозофила делит со многими другими животными, включая и самих нас. Наш разбор механизмов развития плодовой мушки мы начнем с описания того, каким образом это общее строение организма закладывается.

22.3.3. Генетические исследования дают возможность установить группы генов, востребованные для особых моментов начального формирования организма

При помощи серии генетических исследований, основанных на мутагенезе с насыщением (обсуждение в главе 8), собрана коллекция мутантов дрозофилы,

которая содержит множество изменений в большом числе генов, затрагивающих развитие. Независимые мутации в одном и том же гене можно отличить от мутаций в отдельных генах с помощью теста на комплементацию (см. приложение 8.1, стр. 852–853), что позволяет составить каталог генов, классифицированных по фенотипам мутаций в них. Тогда каждая выбранная в таком каталоге группа генов с очень похожими мутантными фенотипами нередко кодирует группу белков, которые работают совместно для выполнения какой-нибудь специфической функции.

Иногда относящиеся к развитию функции, обнаруживаемые благодаря мутантным фенотипам, вполне соответствуют ожиданиям; иногда это настоящий сюрприз. Масштабный генетический скрининг сосредоточенный на ранних стадиях развития дрозофилы, показал, что ключевые гены попадают в относительно небольшой набор функциональных классов, выделенных на основе характерных для них мутантных фенотипов. Некоторые из таких определяюще важных генов — *гены полярности яйца* (*egg-polarity genes*) (рис. 22.30) — необходимы для закладки передне-задней и дорсо-вентральной осей зародыша, а также для предопределения двух его концов к специальным целям дифференцировки; при помощи механизмов на основе взаимодействий между ооцитом и окружающими его клетками яичника. Другие, *гены промежутков* (*gap genes*), необходимы в отдельных широких областях по передне-задней оси раннего зародыша для обеспечения их надлежащего развития. Гены третьей категории — *гены правила пар* (*pair-rule genes*) — нужны, что более удивительно, для развития чередующихся четных или нечетных сегментов тела. Четвертая категория, *гены полярности сегментов* (*segment polarity genes*), отвечает за организацию передне-задней симметрии каждого отдельно взятого сегмента.

Открытие этих четырех систем генов и последующий анализ их функций (он еще не завершен) явилось значительным успехом в области генетики развития. Оно сообщило всей биологии развития мощный толчок, указав путь к систематическому и всестороннему описанию генетического управления эмбриональным развитием. В следующем разделе мы лишь вкратце подытожим заключения, касающиеся самых ранних стадий развития дрозофилы, в силу их специфичности для насекомых; подробнее мы разберем те стороны данного процесса, которые иллюстрируют наиболее общие его принципы.

22.3.4. Взаимодействие ооцита с окружающей его средой определяет оси зародыша: роль генов полярности яйца

Как это ни удивительно, самые ранние шаги развития животных отличаются гораздо больше последующих, даже в пределах одного типа. Лягушка, курица и млекопитающее, например, даже притом что позже они развиваются подобными путями, производят яйца, которые радикально отличаются по размеру и структуре, и начинают свое развитие с разных последовательностей делений клеток и разных событий специализации клеток.

Характер раннего развития, который мы описали на примере *C. elegans*, типичен для животных многих классов. Напротив, раннее развитие дрозофилы представляет собой совсем уж исключительный вариант. Главные оси тела будущего насекомого предопределяются еще до оплодотворения в ходе сложного обмена сигналами между неоплодотворенной яйцеклеткой, или ооцитом, и клетками фолликула, окружающими ее в яичнике (рис. 22.31). Позже, на стадии синцития, следующей за оплодотворением, и до первого разделения яйца на отдельные клетки, происходит

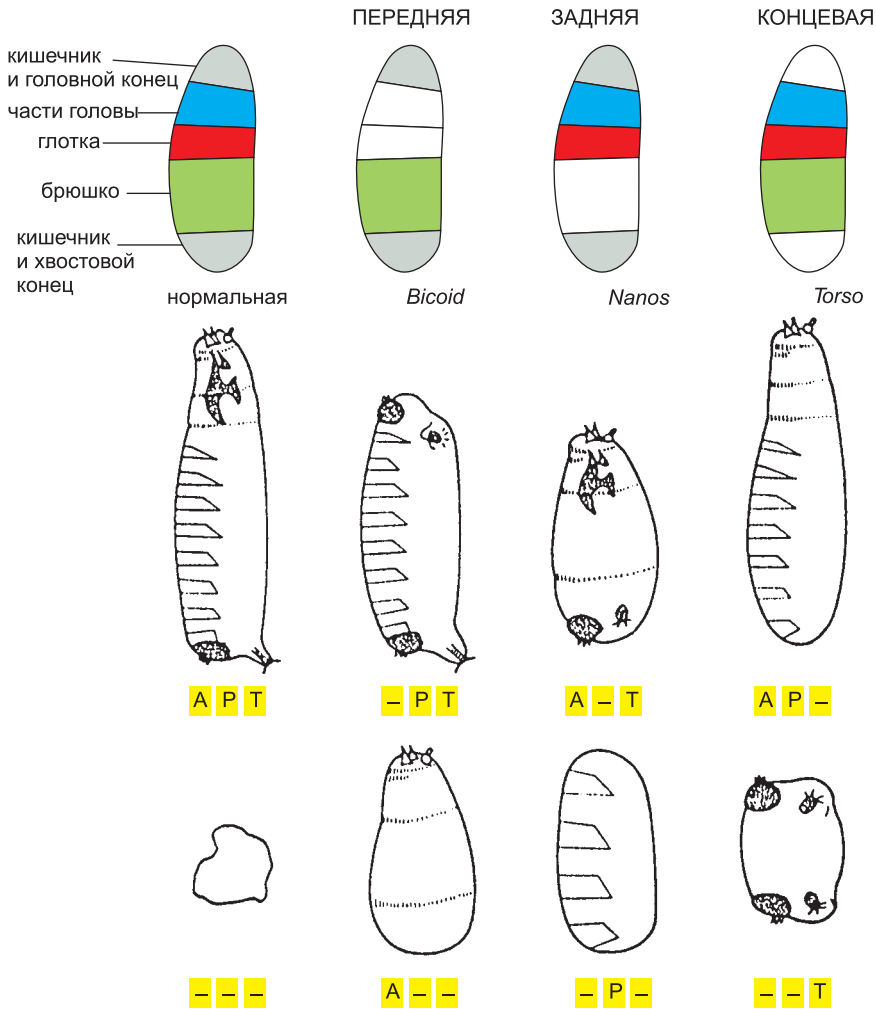


Рис. 22.30. Области действия передней, задней и концевой систем генов полярности яйца. На верхних схемах представлены направления дифференцировки различных областей яйца (раннестадийного зародыша) и показаны (белым) те его части, которые не могут развиваться, если передняя, задняя или концевая система дает сбой. В среднем ряду схематично изображен внешний вид нормальной личинки и облик мутантных личинок, дефектных по гену передней системы (например, *Bicoid*), задней системы (например, *Nanos*) или концевой системы (например, *Torso*). В нижнем ряду рисунков приведен внешний вид личинок, у которых бездействуют все три системы генов или работает только одна из них. Набор букв под каждой личинкой отмечает, какие именно системы не повреждены (A P T — нормальная личинка, - P T — личинка, у которой передняя система дефектна, но задняя и концевая системы не повреждены, и так далее). Инактивация конкретной системы генов вызывает потерю соответствующего набора структур организма; части тела, которые все-таки формируются, соответствуют системам генов, которые остаются функционально активными. Обратите внимание, что личинки с дефектной передней системой все же способны формировать концевые структуры на своем переднем конце, но последние имеют тип, обычно обнаруживаемый на заднем конце тела, а не на головной стороне. (Немного переработано на основе D. St. Johnston and C. Nüsslein-Volhard, *Cell* 68: 201–219, 1992. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

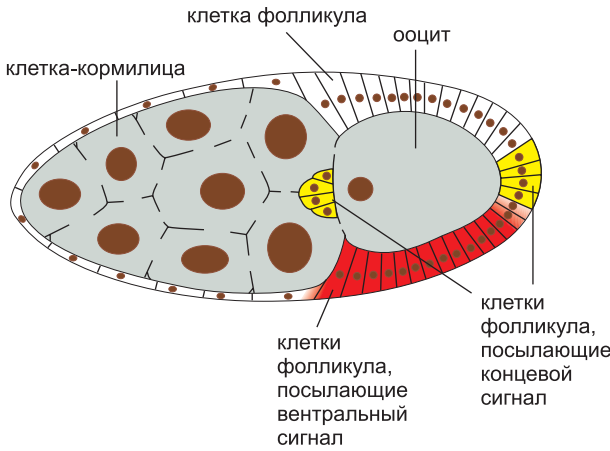


Рис. 22.31. Ооцит дрозофилы в своем фолликуле. Ооцит возникает из зародышевой клетки, которая делится четыре раза и дает семейство из 16 клеток, которые остаются связанными друг с другом через цитоплазматические (серые) мостики. Один член семейной группы становится ооцитом, а другие становятся клетками-кормилицами, которые производят многие из необходимых ооциту компонентов и снабжают его ими через цитоплазматические мостики. Клетки фолликула, частично окружающие ооцит, имеют отдельную родословную. Как показано на рисунке, они служат источниками концевых и вентрального сигналов поляризации яйца.

необычайное по своим масштабам образование массива быстро делящихся ядер. В таких условиях отпадает какая бы то ни было необходимость в обычных формах межклеточного сообщения, основанных на трансмембранной передаче сигналов; соседние области раннего зародыша дрозофилы могут общаться посредством регулирующих гены белков и молекул мРНК, которые диффундируют или активно переносятся через цитоплазму гигантской многоядерной клетки.

На стадиях, предшествующих оплодотворению, передне-задняя ось будущего зародыша закладывается тремя системами молекул, которые устанавливают в ооците своего рода межевые знаки (рис. 22.32). После оплодотворения каждый такой ориентир служит маяком, обеспечивая сигнал, в форме морфогенного градиента, который организует процесс развития в пределах своей вотчины. Два таких сигнала вырабатываются в сосредоточенных запасниках определенных молекул мРНК. Будущий передний конец зародыша содержит высокую концентрацию мРНК для синтеза регуляторного белка Bicoid; далее эта мРНК транслируется, и образовавшийся белок



Рис. 22.32. Организация четырех градиентных систем полярности яйца. Рецепторы Toll и Torso распределены на всем протяжении мембраны; окраска на расположенных справа схемах показывает, где именно они активируются внеклеточными лигандами.

Bicoid диффундирует от своего источника, устанавливая градиент концентрации с максимумом в переднем конце яйца. Будущий задний конец зародыша содержит высокую концентрацию мРНК регулятора трансляции белка *Nanos*, который подобным же образом устанавливает задний градиент. Третий сигнал производится симметрично в обоих концах яйца путем локальной активации трансмембранной рецепторной тирозинкиназы, названной *Torso*. Активированный рецептор оказывает эффект ближнего действия; он маркирует участки специализированных концевых структур, которые сформируются на головном и хвостовом концах будущей личинки, а также определяет зачатки будущего кишечного тракта. Эти три группы генов, отвечающие за такие сосредоточенные детерминанты развития, называют **передней, задней и концевой** системой генов **полярности яйца**.

Четвертая система определяет дорсо-вентральную ось (см. рис. 22.32): белок, который производится клетками фолликула под будущей вентральной областью зародыша, осуществляет местную активацию другого трансмембранного рецептора, называемого *Toll* и пребывающего в мембране ооцита. Отвечающие за отправление этой функции гены называют **дорсо-вентральными** генами полярности яйца.

Гены полярности яйца всех этих четырех классов представляют собой гены материнского эффекта: ведь именно геном матери, а не геном зигот, является определяющим в данной сфере. Таким образом, муха, хромосомы которой мутантны в обеих копиях гена *Bicoid*, но которая рождена от матери, несущей одну нормальную копию гена *Bicoid*, развивается совершенно обычно, без каких-либо дефектов в строении головы. Однако если эта муха-дочь — самка, то в передней части ее собственных яиц не будет никакой функционально активной мРНК гена *Bicoid*, и все они разовьются в безголовых зародышах независимо от генотипа отца.

Каждый из четырех сигналов полярности яйца — представленных белками *Bicoid*, *Nanos*, *Torso* и *Toll*, — оказывает свое действие путем регуляции (прямой или косвенной) экспрессии генов в ядрах бластодермы. Использование этих специфических молекул для организации структуры яйца не является общей особенностью развития животных на ранних его стадиях — в самом деле, только дрозофила и близкородственные ей насекомые обладают геном *Bicoid*. Что касается белка *Toll*, то он был введен мухой в состав этих генов для обеспечения дорсо-вентральной полярности; его более древняя и универсальная функция используется в иммунных реакциях в системе врожденного иммунитета, о чем будет написано в главе 24.

Тем не менее система полярности яйца показывает некоторые сильно консервативные особенности. Например, локализация мРНК гена *Nanos* в одном конце яйца связана с локализацией в этом участке (и от нее зависит) детерминантов зародышевых клеток точно так же, как это имеет место у *C. elegans*. На более поздних стадиях развития, когда в игру включается геном зиготы под влиянием системы полярности яйца, начинает просматриваться больше подобий с животными других видов. Этот момент мы будем иллюстрировать на примере дорсо-вентральной системы.

22.3.5. Дорсо-вентральные сигнальные гены создают градиент ядерного регуляторного белка

Местная активация рецептора *Toll* на брюшной стороне яйца обуславливает распределение в яйце ядерного регуляторного белка *Dorsal*. Белок *Dorsal* принадлежит к тому же семейству, что и ядерный регуляторный белок NFκB позвоночных (см. главу 15). Его активность, регулируемая рецептором *Toll*, подобно таковой



Рис. 22.33. Градиент концентрации белка Dorsal в ядрах бластодермы, проявленный при помощи антител. На дорсальной стороне этот белок присутствует в цитоплазме и отсутствует в ядрах; на вентральной стороне он разрежен в цитоплазме и сконцентрирован в ядрах. (Заимствовано из S. Roth, D. Stein and C. Nüsslein-Volhard, *Cell* 59: 1189–1202, 1989. С разрешения издательства Elsevier.)

NFκB, зависит от его перемещения из цитоплазмы, где он пребывает в неактивной форме, в ядро, где он регулирует экспрессию генов. В недавно отложенном яйце как мРНК гена *Dorsal* (которую можно обнаружить гибридизацией *in situ*), так и кодируемый ею белок (обнаруживаемый окрашиванием антителами) равномерно распределены по цитоплазме. Однако после того как ядра мигрируют к поверхности зародыша, чтобы сформировать бластодерму, происходит удивительное перераспределение белка Dorsal: на дорсальной стороне этот белок остается в цитоплазме, а на брюшной стороне он концентрируется в ядрах, причем между этими двумя крайними точками устанавливается плавный градиент его концентрации в ядрах (рис. 22.33). Таким перераспределением белка Dorsal управляет сигнал, передаваемый белком Toll через сигнальный путь, который по сути тот же, что и зависимый от белка Toll путь, действующий в системе врожденного иммунитета.

Попав в ядро, белок Dorsal, в зависимости от его концентрации, включает или выключает экспрессию разных наборов генов. Экспрессия каждого реагирующего на него гена зависит от его регуляторной ДНК, а именно от числа и сродства участков связывания, которыми эта ДНК располагает для взаимодействия с белком Dorsal и другими регуляторными белками. Таким образом, регуляторная ДНК, можно сказать, *интерпретирует* позиционный сигнал, обеспечиваемый градиентом белка Dorsal, с тем чтобы обозначить дорсо-вентральный ряд территорий — отличительных полос клеток, которые тянутся по всей длине зародыша (рис. 22.34, а). Наиболее близко к вентральному краю — где концентрация белка Dorsal наиболее высока, — он включает, например, экспрессию гена по имени *Twist*, специфичного для мезодермы (рис. 22.35). Наиболее близко к дорсальному краю, где концентрация белка Dorsal наиболее низка, клетки включают экспрессию гена *Decapentaplegic (Dpp)*. А в промежуточной области, где концентрация белка Dorsal достаточно высока для подавления гена *Dpp*, но слишком низка для активации гена *Twist*, клетки включают другой набор генов, в том числе один под названием *Short gastrulation (Sog)*.

22.3.6. Установленный белками *Dpp* и *Sog* вторичный градиент морфогена детализируют формирование дорсальной части зародыша

Продукты генов, непосредственно регулируемых белком Dorsal, в свою очередь, вырабатывают более локальные сигналы, которые управляют более тонким подразделением дорсо-вентральной оси. Эти сигналы работают после обособления у зародыша клеток и имеют форму обычных внеклеточных сигнальных молекул.

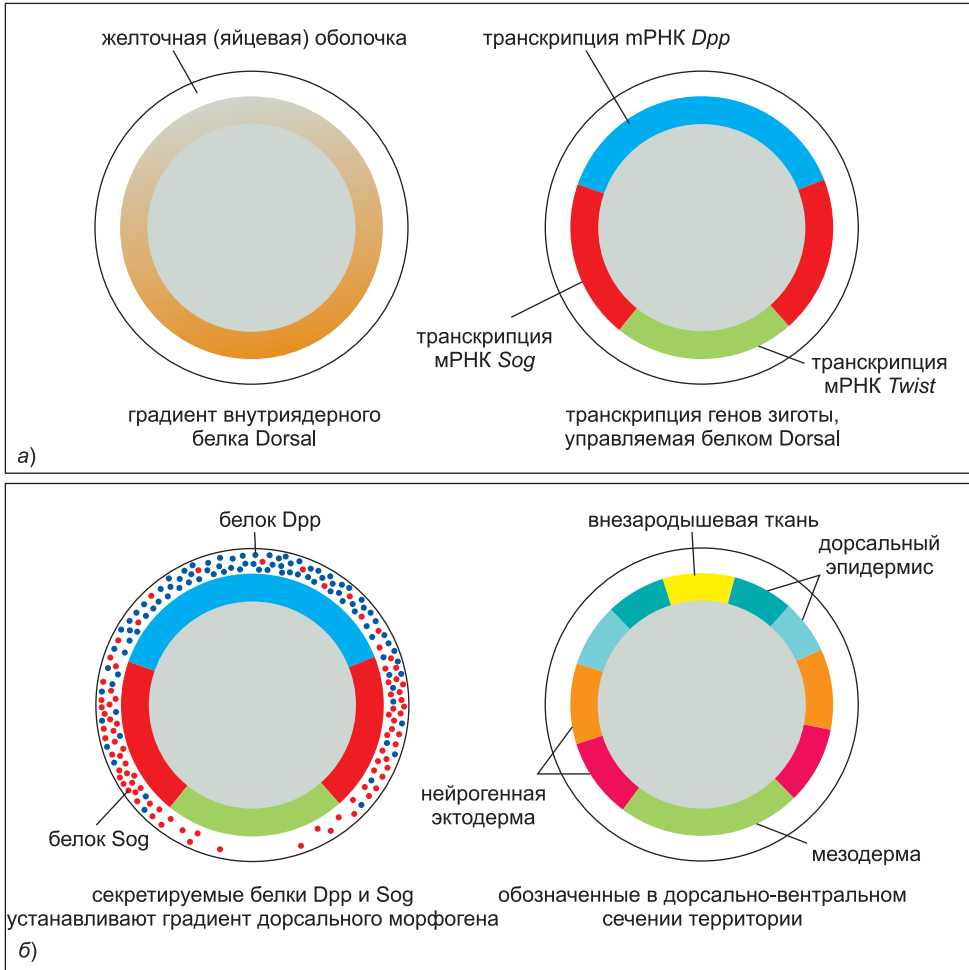


Рис. 22.34. Градиенты морфогенов, закладывающие дорсо-вентральную ось зародыша. а) Градиент белка *Dorsal* определяет три широкие территории экспрессии генов, отмеченные на этом рисунке экспрессией трех представительных генов — *Dpp*, *Sog* и *Twist*. б) Немного позже клетки, экспрессирующие гены *Dpp* и *Sog*, выделяют соответственно сигнальные белки *Dpp* (член семейства TGFβ) и *Sog* (антагонист *Dpp*). Эти два белка диффундируют и взаимодействуют друг с другом (и с некоторыми другими факторами), в итоге чего устанавливают градиент активности белка *Dpp*, действие которого направляет более детальный процесс дорсовентральной дифференциации.

В частности, ген *Dpp* кодирует выделяемый белок *Dpp*, который формирует локальный градиент морфогена в дорсальной части зародыша. Ген *Sog* тем временем кодирует другой выделяемый белок, который производится в нейрогенной эктодерме и выступает в роли антагониста белка *Dpp*. Встречные градиенты этих двух белков создают крутой градиент активности белка *Dpp*. Самые высокие уровни активности белка *Dpp*, в комбинации с некоторыми другими факторами, обуславливают развитие наиболее дорсальной из всех тканей — внезародышевой оболочки, промежуточные уровни определяют развитие дорсальной эктодермы, а очень низкие уровни задают развитие нейрогенной эктодермы (рис. 22.34, б).



Рис. 22.35. Происхождение мезодермы из клеток, экспрессирующих белок Twist. Зародыши зафиксировали параформальдегидом на последовательных стадиях развития, сделали поперечные срезы и окрасили антителом к белку Twist, регулирующему гены белка из семейства bHLH. Как видно, клетки, экспрессирующие белок Twist, перемещаются внутрь зародыша и образуют мезодерму. (Заимствовано из M. Leptin, J. Casal, B. Grunewald and R. Reuter, *Development Suppl.* 23–31, 1992. С любезного разрешения The Company of Biologists.)

22.3.7. Дорсо-вентральная ось насекомого соответствует вентро-дорсальной оси позвоночного

Белок Dpp относится к суперсемейству сигнальных молекул TGF β , которое также весьма важно для позвоночных; белок Sog — гомолог белка позвоночных хордина. Поразительно, что у позвоночных гомолог Dpp, белок BMP4, и хордин аналогичным образом работают совместно и выполняют равнозначные функции, что и белки Dpp и Sog у дрозофилы. Эти два белка управляют дорсо-вентральной разметкой эктодермы, при этом высокие уровни хордина определяют область, которая является нейрогенной, а высокие уровни активности BMP4 определяют область, которая не является таковой. Данная общность, наряду с прочими молекулярными параллелями, явно свидетельствует в пользу консервативности общего строения этой оси организма у насекомых и позвоночных. Однако эта ось инвертирована так, что дорсальная сторона мухи соответствует вентральной позвоночного (рис. 22.36). По-видимому, в некоторый момент эволюции, предку одного из этих классов животных стало удобнее жить вверх тормашками.¹

22.3.8. Гены сегментации трех классов детализируют материнское передне-заднее разбиение и подразделяют зародыш на сегменты

После установления первичных градиентов белков Bicoid и Nanos, определяющих передне-заднюю ось тела, на сцену выходят **гены сегментации**, уточняющие эту начальную конфигурацию. Мутации в любом из генов сегментации изменяют число сегментов или их основную внутреннюю организацию, не затрагивая общей полярности зародыша. Гены сегментации экспрессируются подгруппами клеток в зародыше, так что их продукты представляют собой первые компоненты, которые уже собственный геном зародыша, а не материнский геном, вносит в эмбриональное развитие. В связи с этим их называют *генами зиготического эффекта*, дабы отличать их от более ранних генов материнского эффекта.

¹ Переворот по дорсо-вентральной оси произошел при переходе от первичноротых к вторичноротым. «Перевернутый» план строения большого числа беспозвоночных относительно позвоночных установил еще Кювье в начале XIX века. — *Прим. ред.*

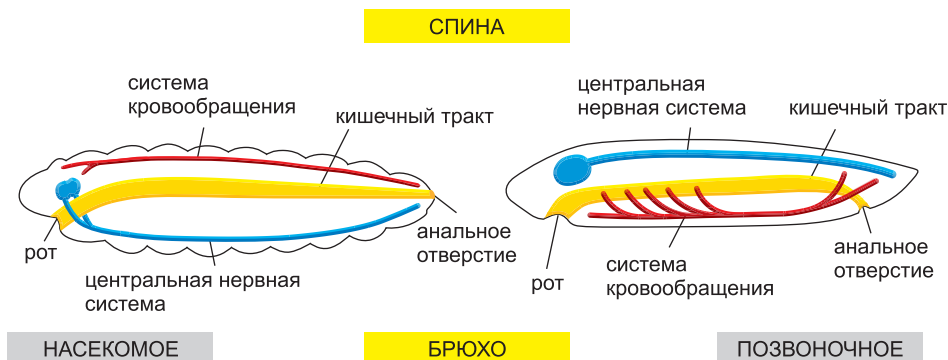


Рис. 22.36. Общее строение организма позвоночного как дорсально-вентральная инверсия общего строения тела насекомого. Механизм конфигурирования тела зародыша позвоночного относительно его дорсально-вентральной оси будет рассмотрен подробнее ближе к концу этой главы. Обратите внимание на взаимное соответствие в отношении системы кровообращения, а также кишечного тракта и нервной системы. У насекомых система кровообращения представлена сердцем в виде системы трубок и главным спинным кровеносным сосудом, который выкачивает кровь в области тканей через одну группу отверстий и засасывает просачивающуюся сквозь ткани кровь обратно через вторую их группу. В отличие от позвоночных, у насекомых совершенно отсутствует система капиллярных судов для циркуляции крови по тканям. Тем не менее развитие сердца у позвоночных и у насекомых зависит от взаимно гомологичных генов, что лишний раз свидетельствует о связи между строением организма первых и вторых. (Переработано на основе E. L. Ferguson, *Curr. Opin. Genet. Dev.* 6: 424–431, 1996. С благосклонного разрешения издательства Elsevier.)

Гены сегментации попадают в три группы согласно их мутантным фенотипам (рис. 22.37). Ради удобства принимают допущение о последовательном действии этих трех групп, хотя в действительности их функции пересекаются во времени. Первой идет группа по крайней мере из шести *gap*-генов, продукты которых размечают грубые подразделения зародыша. Мутации в *gap*-гене приводят к исчезновению одной или нескольких групп смежных сегментов, а мутации в разных заполняющих генах вызывают разные, но частично накладывающиеся друг на друга дефекты. Например, мутантной по гену *Krüppel* личинке недостает восьми сегментов, от T1 до A5 включительно.

Следующая категория генов сегментации — группа из восьми генов *pair-rule*. Мутации в них вызывают ряд удалений, затрагивающих сегменты через один (все четные или все нечетные), в силу чего эмбрион остается только с половиной от обычного числа сегментов. Хотя все мутанты *pair-rule* показывают такую периодичность через два сегмента, они отличаются по точному расположению удалений относительно сегментных или парасегментных границ. Например, у мутанта по гену *Even-skipped (Eve)*, которому мы уже дали оценку в главе 7, полностью отсутствуют все нечетные парасегменты, тогда как мутанту по гену *Fushi tarazu (Ftz)* очень недостает всех четных парасегментов, а мутант по гену правила пар *Hairy* страдает от нехватки ряда областей, которые имеют подобную парасегментам ширину, но смещены относительно парасегментных единиц.

Наконец, известно по крайней мере 10 генов полярности сегментов. После мутаций в этих генах получают личинки с нормальным числом сегментов, но таких, что часть каждого сегмента удалена и заменена зеркальным дубликатом всего сегмента или остальной его части. Например, у мутантов по гену *Gooseberry*

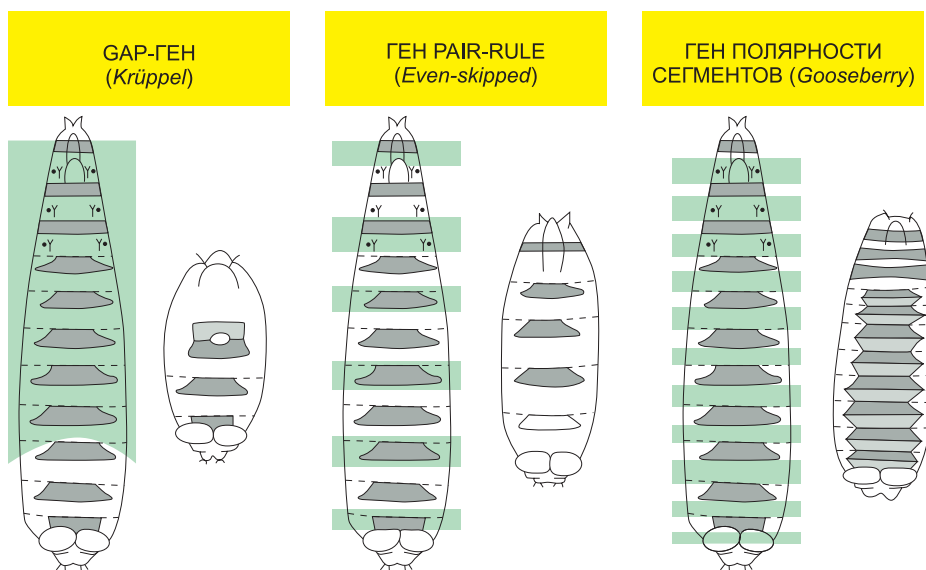


Рис. 22.37. Примеры фенотипов мутаций, затрагивающих гены сегментации трех типов. В каждом случае области, затененные зеленым цветом на нормальной (слева) личинке, отсутствуют у мутанта или заменяются зеркальными дубликатами незатронутых мутацией областей. (Переработано на основе С. Nüsslein-Volhard и E. Wieschaus, *Nature* 287: 795–801, 1980. С любезного разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

задняя половина каждого сегмента (или, что то же, передняя половина каждого парасегмента) заменена приблизительным зеркальным отображением смежного с ним впереди стоящего полусегмента (см. рис. 22.37).

Позже мы увидим, что параллельно с процессом сегментации работает еще одна группа генов (*гомеозисные селекторные гены*), которая нужна для сообщения последовательности сегментов взаимных различий и последующего их сохранения.

Фенотипы различных мутантов по генам сегментации позволяют предположить, что гены сегментации формируют согласованную систему, которая последовательно подразделяет зародыш на все меньшие и меньшие области по передне-задней оси, отличающиеся между собой разными картинами экспрессии генов. Молекулярная генетика помогла показать, как эта система работает.

22.3.9. Локализованная экспрессия генов сегментации регулируется иерархией позиционных сигналов

Примерно три четверти генов сегментации, включая все *gap*-гены и *pair-rule* гены, кодируют регуляторные белки. Поэтому их действие друг на друга и на другие гены можно наблюдать, сравнивая экспрессию генов в нормальном и мутантном зародышах. Используя соответствующие зонды для обнаружения транскриптов генов или их белковых продуктов, можно, в сущности, сделать снимки того, как в изменяющихся картинах экспрессии одни или другие гены включаются и выключаются. Повторяя этот процесс с мутантами, у которых отсутствует тот или иной ген сегментации, можно начать разгадывать логику всей системы генетического управления.

Продукты генов полярности яйца обеспечивают зародыш глобальными позиционными сигналами на ранних стадиях его развития. Они обуславливают

экспрессию заданных *gap* генов в определенных областях. Далее продукты *gap* генов обеспечивают позиционные сигналы второго уровня, которые работают более локально и регулируют более тонкие детали конфигурирования посредством экспрессии следующей группы генов, в том числе генов *gap pair rule* (рис. 22.38). Гены *pair rule*, в свою очередь, действуют совместно друг с другом и с *gap* генами и устанавливают регулярную периодическую картину экспрессии генов полярности сегментов, а гены полярности сегментов действуют совместно друг с другом

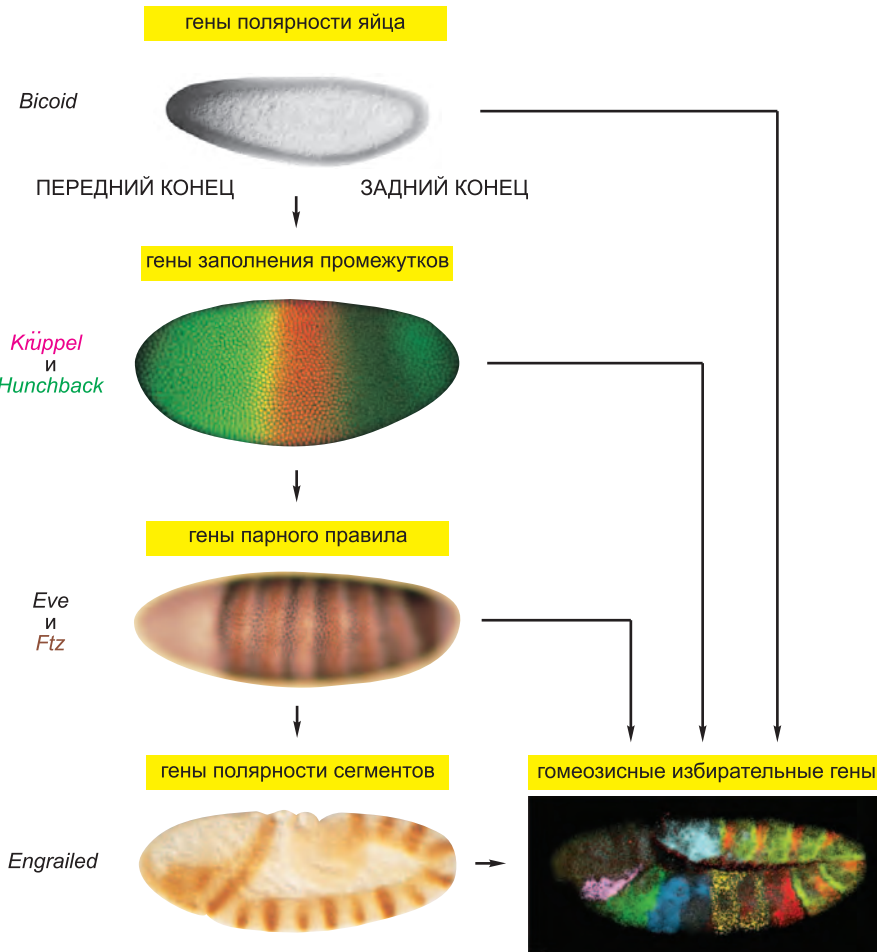


Рис. 22.38. Регуляторная иерархия генов полярности яйца, *gap* генов, генов сегментации и гомеозисных селекторных генов. На фотографиях запечатлены характерные примеры картин экспрессии генов из каждой категории, проявленных при помощи мечения антителами к соответствующим белковым продуктам. Гомеозисные селекторные гены, обсуждаемые ниже, определяют длительные различия между сегментами. (Фотографии сверху вниз: 1) заимствована из W. Driever and C. Nüsslein-Volhard, *Cell* 54: 83–104, 1988. С любезного разрешения издательства Elsevier; 2) любезно предоставлена Jim Langeland, Steve Paddock, Sean Carroll и Howard Hughes Medical Institute; 3) взята из P. A. Lawrence, *The Making of a Fly*. Oxford, UK: Blackwell, 1992; 4) заимствована из С. Hama, Z. Ali and T. B. Kornberg, *Genes Dev.* 4: 1079–1093, 1990. С любезного разрешения издательства Cold Spring Harbor Laboratory Press; 5) любезность William McGinnis и переработка на основе D. Kosman et al., *Science* 305: 846, 2004. С любезного разрешения издательства AAAS.)

и определяют внутреннюю структуру каждого отдельно взятого сегмента. Таким образом, данная стратегия — одна из разновидностей последовательной индукции (см. рис. 22.16). По мере развития процесса глобальные градиенты, установленные генами полярности яйца, запускают создание тонкой структуры через иерархию последовательного, все более локального, позиционного управления. Поскольку глобальные позиционные сигналы, начинающие процесс, не должны непосредственно определять мелкие элементы структуры, вовсе не нужно, чтобы отдельные клеточные ядра с чрезвычайной точностью управлялись маленькими различиями в концентрации этих сигналов. Вместо этого, на каждом шаге этой последовательности в игру входят новые сигналы, которые обуславливают существенные местные различия концентрации и тем самым определяют новые детали строения организма. Таким образом, последовательная индукция — это устойчивая стратегия. Благодаря ее надежной работе на свет появляются зародыши мухи с общим для всех строением организма, несмотря на существенную неточность биологических систем управления и несмотря на переменчивость условий, в которых муха вынуждена развиваться, — таких, скажем, как температура.

22.3.10. Модульная организация регуляторной ДНК позволяет генам выполнять многочисленные и независимо контролируемые функции

Только что описанный нами сложнейший процесс формирования структур организма зависит от длинных отрезков последовательности некодирующей ДНК, которые управляют экспрессией каждого из участвующих в этом деле генов. Эти регуляторные области связывают многочисленные копии регулирующих генов белков, производимых регуляторными генами, экспрессировавшимися ранее. Подобно логическому устройству ввода-вывода (данных), каждый отдельный ген таким образом включается и выключается согласно конкретной комбинации белков, связанных с его регуляторными областями на каждой стадии развития. В главе 7 мы описываем один специфический ген сегментации — ген *pair rule Even-skipped (Eve)* — и обсуждаем, как на основе всех этих входов возникает решение о том, стоит ли транскрибировать этот ген (см. рис. 7.55). К данному примеру можно обратиться и в дальнейшем, с целью показать некоторые важные принципы формирования структур организма в ходе развития.

Отдельные полосы экспрессии гена *Eve* зависят от отдельных регуляторных модулей в регуляторной ДНК гена *Eve*. Таким образом, один регуляторный модуль отвечает за экспрессию гена *Eve* в полосах 1 и 5, другой — в полосе 2, следующий — в полосах 3 и 7 и еще один — в полосах 4 и 6 (рис. 22.39). Каждый регуляторный модуль определяет свой особый набор требований для экспрессии соответствующего гена согласно концентрациям продуктов генов полярности яйца и заполняющих генов. Таким вот образом регуляторная ДНК гена *Eve* осуществляет трансляцию сложной неповторяющейся картины распределения белков полярности яйца и заполнения промежутков в периодическую картину экспрессии данного гена правила пар.

Только что описанная здесь модульная организация регуляторной ДНК гена *Eve* является типичной для регуляции генов в организме многоклеточных животных и растений и имеет далеко идущие последствия. Располагая в ряд друг над другом последовательности модулей, которые отвечают на различные комбинации регуляторных белков, можно произвести почти любую картину экспрессии генов на основе почти любой другой. Более того, модульность позволяет регуляторной

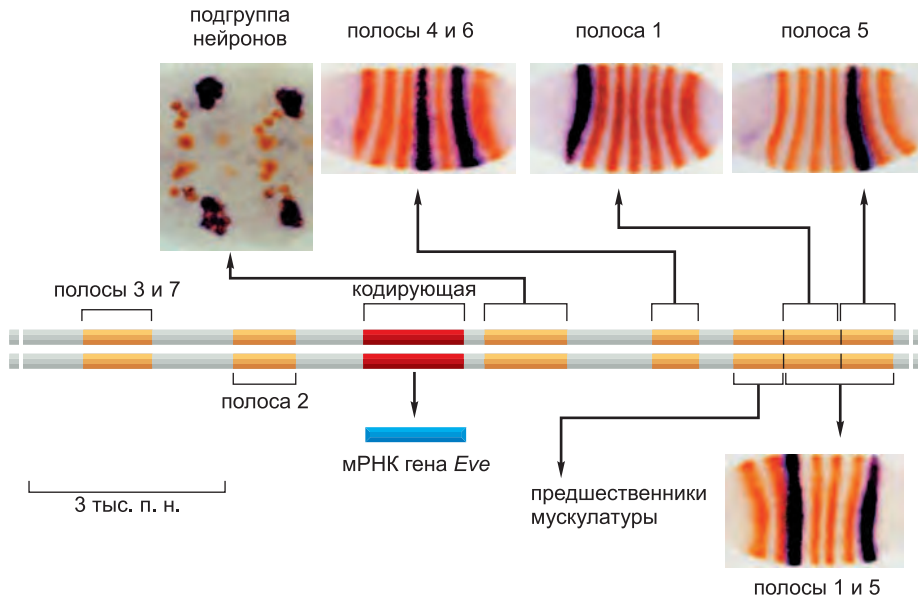


Рис. 22.39. Модульная организация регуляторной ДНК гена *Eve*. В представленном эксперименте клонированные фрагменты регуляторной ДНК сцеплены с геном-репортером *LacZ* (бактериальный ген). После этого трансгенные эмбрионы, содержащие такие конструкции, окрасили посредством гибридизации *in situ*, чтобы проявить картину экспрессии гена *LacZ* (синего/черного цвета), и контрастно окрасили антителом к белку *Eve* (оранжевый), дабы показать положения полос нормальной экспрессии гена *Eve*. Как обнаружено, разные сегменты регуляторной ДНК гена *Eve* (желтые полосы) обуславливают экспрессию этого гена в областях, соответствующих разным участкам нормальной картины экспрессии гена *Eve*. Два сегмента в тандеме обуславливают картину экспрессии, представляющую собой сумму картин, производимых каждым из них в отдельности. Отдельные регуляторные модули отвечают за разные моменты времени экспрессии этого гена, а также за разные ее местоположения: на крайнем левом изображении отображено действие модуля, который входит в игру позже, чем другие показанные здесь модули, и продвигает экспрессию в подгруппе нейронов. (Заимствовано из M. Fujioka et al., *Development* 126: 2527–538, 1999. С любезного разрешения The Company of Biologists.)

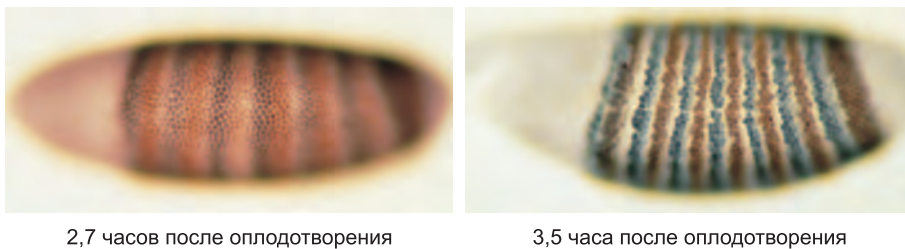
ДНК определять картины экспрессии генов, которые не просто сложны, но имеют перестраивающиеся независимо друг от друга части. Изменение в одном из регуляторных модулей может изменить одну часть картины экспрессии, не затрагивая остальные ее части и не требуя изменений в наборе регуляторных белков, которые отозвались бы на экспрессии других генов генома. Как описано в главе 7, именно такая регуляторная ДНК содержит ключ к сложной организации многоклеточных растений и животных и ее свойства делают возможной независимую приспособляемость каждого структурного звена организма в ходе развития.

Большинство генов сегментации выполняет важные функции также и в другие моменты времени и в других местах в процессе развития дрозофилы. Ген *Eve*, например, под управлением дополнительных энхансеров экспрессируется в подгруппах нейронов, в предшественниках мышечных клеток и в разных других участках тела (см. рис. 22.39). За счет добавления новых модулей к регуляторной ДНК любого гена, он, без ущерба для своих старых функций, может быть приобщен в ходе эволюции к выполнению новых целей на новых участках тела.

22.3.11. Гены полярности яйца, *gap* гены и гены *pair rule* создают временную картину экспрессии, запоминаемую другими генами

В течение первых нескольких часов после оплодотворения активируются *gap* гены и гены *pair rule*. Их мРНК-продукты появляются первыми в картинах экспрессии, являющихся лишь предшественником конечного рисунка; далее, в течение короткого промежутка времени через ряд взаимосогласованных подстроек нечеткое первоначальное распределение продуктов этих генов самостоятельно преобразуется в регулярную, ясно очерченную систему полос (рис. 22.40). Но сама по себе эта система является неустойчивой и зыбкой. Когда зародыш проходит гастрюляцию и движется далее, регулярная сегментная картина продуктов *gap* генов и генов *pair rule* распадается. Однако их действия оставляют неизменный набор меток — позиционных значений — на клетках бластодермы. Эти позиционные метки записаны в виде неизменной активации определенных генов полярности сегментов и гомеозисных селекторных генов, которые поддерживают сегментную организацию личинки и взрослого насекомого. Хорошим примером служит ген полярности сегментов *Engrailed*. Его РНК-транскрипты наблюдаются в клеточной бластодерме в виде последовательности из 14 полос (каждая шириной примерно в одну клетку), соответствующих самым передним частям будущих парасегментов (рис. 22.41).

Гены полярности сегментов экспрессируются в виде картин, которые повторяются от одного парасегмента к другому, и их полосы экспрессии устойчиво соотносятся с полосами экспрессии генов *pair rule*, которые помогают их индуцировать. Однако создание такой картины в пределах каждого парасегмента зависит от взаимодействий между самими генами полярности сегментов. Эти взаимодействия происходят на стадиях развития, когда бластодерма уже стала полностью раздробленной на отдельные клетки, так что в игру должна включиться система передачи межклеточных сигналов обычного вида. Большая подгруппа генов полярности сегментов кодирует компоненты двух путей передачи сигналов, пути Wnt и пути Hedgehog, в том числе секретируемые сигнальные белки Wingless (член семейства Wnt) и Hedgehog. Они экспрессируются в разных полосах клеток, которые служат сигнальными центрами в пределах каждого парасегмента, и их действия направлены на поддержание и уточнение картин экспрессии других генов полярности сегментов. Более того, хотя их начальная экспрессия определяется генами *pair rule*, эти два сигнальных белка регулируют экспрессию друг друга способом взаимной поддержки и вдобавок продолжают помогать запускать экспрессию генов типа *Engrailed* в точно определенных участках.



2,7 часов после оплодотворения

3,5 часа после оплодотворения

Рис. 22.40. Формирование полос экспрессии генов *Ftz* и *Eve* в бластодерме дрозофилы. Оба гена, и *Ftz* и *Eve*, относятся к генам *pair rule*. Картины их экспрессии (показаны коричневым для гена *Ftz* и серым для гена *Eve*) сначала расплывчаты, но быстро распадаются на резко очерченные полосы. (Заимствовано из P. A. Lawrence, *The Making of a Fly*. Oxford, UK: Blackwell, 1992.)



Рис. 22.41. Картина экспрессии гена полярности сегментов *Engrailed*. Картина экспрессии гена *Engrailed* показана в 5-часовом зародыше (на стадии вытянутой зародышевой полоски), в 10-часовом зародыше и во взрослом насекомом (в данном препарате его крылья удалены). Эта картина проявлена с помощью антитела (коричневый цвет) к белку *Engrailed* (для 5- и 10-часовых зародышей) или (для взрослого насекомого) при помощи конструирования линии дрозофилы, содержащей контролируемые последовательности гена *Engrailed*, сцепленные с кодирующими последовательностями гена-репортера *LacZ*, продукт которого обнаружим гистохимическими приемами по синему цвету продукта катализируемой им реакции. Обратите внимание, что картина экспрессии гена *Engrailed*, будучи однажды установлена, сохраняется на протяжении всей жизни животного. (Заимствовано из C. Hama, Z. Ali and T. V. Kornberg, *Genes Dev.* 4: 1079–1093, 1990. С любезного разрешения Cold Spring Harbor Laboratory Press.)

Картина экспрессии гена *Engrailed* будет сохраняться на протяжении всей жизни организма, спустя длительное время после исчезновения сигналов, которые изначально организовали его производство (см. рис. 22.41). Этот пример иллюстрирует не только последовательное подразделение эмбриона посредством все более и более узконаправленных сигналов, но также и переход от непостоянных (кратковременных) сигнальных событий периода раннего развития к более позднему устойчивому поддержанию (сохранению) относящейся к развитию информации.

Помимо регулирования экспрессии генов полярности сегментов, продукты генов *pair rule* в сотрудничестве с продуктами *gap* генов, обуславливают точно локализованную активацию дальнейшего набора пространственных меток — гомеозисных селекторных генов. Именно гомеозисные селекторные гены раз и навсегда устанавливают и закрепляют отличия одного парасегмента от другого. В следующем параграфе мы подробно изучим эти самые селекторные гены и рассмотрим их роль в памяти клетки.

Заключение

Для генетики развития животных дрозофила стала самым значимым модельным организмом. Как и у прочих насекомых, ее развитие начинается с ряда ядерных делений, ведущего к образованию синцития, и в этой гигантской единой многоядерной клетке происходит немалая часть первичной разметки эмбриона. Структура эмбриона начинается с асимметрии яйца, организуемой

и сосредоточенными запасами мРНК в яйце, и сигналами от окружающих его клеток фолликула. Позиционная информация в многоядерном зародыше обеспечивается четырьмя внутриклеточными градиентами, которые устанавливают продукты четырех групп генов материнского эффекта, называемых генами полярности яйца. Они контролируют четыре разграничения, принципиальных для общего строения организма животных: спина против брюха, эндодерма против мезодермы и эктодермы, зародышевые клетки против соматических клеток и голова против хвоста.

*Гены полярности яйца устанавливают градиенты распределения регуляторных белков в яйце и зародыше на ранних стадиях развития. Градиенты по передне-задней оси иницируют упорядоченную экспрессию генов *gap*, генов *pair rule*, генов полярности сегментов и гомеозисных селекторных генов. Они, через иерархию сложных взаимодействий, начинают экспрессироваться в одних областях зародыша, не претендуя на другие, и последовательно подразделяют бластодерму на регулярный ряд повторяющихся модульных единиц, называемых сегментами. Сложные картины экспрессии генов отражают модульную организацию регуляторной ДНК, то есть наличие у отдельно взятого гена различных энхансеров, отвечающих за отдельные участки его картины экспрессии.*

*К концу процесса сегментации, вскоре после того как синцитий разделится на отдельные клетки, в игру входят гены полярности сегментов и принимают за внутреннюю разметку каждого сегмента, при помощи сигнальных путей с участием белков *Wnt (Wingless)* и *Hedgehog*. Это приводит к постоянной локализованной активации таких генов, как *Engrailed*, что позволяет клетке запомнить свой адрес по передне-задней оси в пределах данного сегмента. Тем временем по дорсо-вентральной оси устанавливается еще один градиент межклеточного сигнала, при этом в роли морфогенов выступают член семейства *TGFβ Decapentaplegic (Dpp)* и его антагонист *Short gastrulation (Sog)*. Этот градиент помогает уточнить распределение различных признаков по клеткам на разных уровнях по дорсо-вентральной оси. Гомологичные им белки, как известно, управляют развитием вдоль вентро-дорсальной оси у позвоночных.*

22.4. Гомеозисные селекторные гены и формирование передне-задней оси

В ходе своего развития тело становится все более и более сложным. Однако во всей этой возрастающей сложности есть упрощающая особенность, благодаря которой картина всего процесса развития вписывается в рамки нашего понимания. Снова и снова у каждого вида и на каждом уровне организации мы находим, что сложные структуры создаются путем повторения нескольких основных тем с некоторыми вариациями. Так, в разных участках тела, практически в неизменном виде, лишь с тонкими индивидуальными разновидностями, встречается ограниченное число основных типов дифференцированных клеток, таких как мышечные клетки или фибробласты. Клетки этих типов организованы в ткани ограниченного числа типов, таких как мышцы или сухожилия, которые опять же встречаются в разных областях тела и имеют лишь тонкие отличия друг от друга. Из различных тканей строятся разные органы, скажем, зубы или пальцы — коренные и резцы, пальцы рук, большой палец и пальцы ног, — по сути, структуры нескольких основных видов, повторяющиеся с некоторыми изменениями.

Везде, где бы мы ни встречали такое явление *модулированного повторения*, мы можем разделить задачу биологии развития на следующие два вопроса: каков основной конструирующий механизм, общий для всех объектов данного класса? и как этот механизм видоизменяется, чтобы дать наблюдаемые разновидности? Зародыш использует комбинаторную стратегию для создания всей своей сложности, и мы можем прибегнуть к комбинаторной же стратегии для ее постижения.

Сегменты тела насекомого служат весьма наглядным примером. Мы уже сделали набросок схемы, по которой строится зачаток отдельно взятого типичного сегмента. Теперь нам надо посмотреть, за счет чего один сегмент начинает отличаться от другого.

22.4.1. Комплекс Нох определяет различия в передне-задней оси

В генетике первый проблеск ответа на вопрос о том, как каждый сегмент приобретает свой индивидуальный характер, забрезжил более 80 лет назад, с открытием первой из целой серии мутаций дрозофилы, вызывающих причудливые аномалии в организации тела взрослой мухи. К примеру, у мутанта по гену *Antennapedia* вместо антенн на голове вырастают ноги (рис. 22.42), а у мутанта по гену *Bithorax* появляются части дополнительной пары крыльев там, где обычно должны быть намного меньшие придатки, называемые жужжальцами. Эти мутации преобразуют части тела в структуры, соответствующие другим положениям в (на) теле, и называются *гомеозисными*. Целая группа **гомеозисных селекторных генов** определяет характер сегментов мухи относительно передне-задней оси.

Все гены этой группы — а у мухи их восемь, — связаны между собой эволюционным родством, являясь членами мультигенного семейства, и все они лежат в одной или другой из двух плотных групп генов, известных под названиями «**комплекс Bithorax**» и «**комплекс Antennapedia**». Гены комплекса Bithorax определяют различия между брюшными и грудными сегментами тела, тогда как гены комплекса Antennapedia определяют различия между грудными и головными сегментами. Сравнения с другими биологическими видами показывают, что те же самые гены присутствуют практически у всех животных, включая людей. Эти сравнения показывают также и то, что комплексы Antennapedia и Bithorax представляют собой две половины одного целого — так называемого **комплекса Нох**, разделившегося надвое в ходе эволюции мухи, элементы которого согласованно управляют организацией строения тела по оси голова—хвост.



Рис. 22.42. Гомеозисная мутация. Представленная здесь муха — мутант по гену *Antennapedia*. Ее антенны превратились в подобие ног из-за мутации в регуляторной области гена *Antennapedia*, в силу которой он начинает экспрессироваться в голове. Сравните ее с нормальной мухой, показанной на рис. 22.24. (Снимок любезно предоставлен Matthew Scott.)

22.4.2. Гомеозисные селекторные гены кодируют ДНК-связывающие белки, которые взаимодействуют с другими регуляторными белками

В первом приближении можно сказать, что каждый гомеозисный селекторный ген обычно экспрессируется в тех областях, которые развиваются аномально, когда этот ген мутирован или отсутствует. Таким образом, продукты этих генов можно рассматривать как молекулярные адресные ярлыки для клеток каждого парасегмента: они — физическое воплощение позиционных значений клеток. Если адресные ярлыки изменяются, то парасегмент ведет себя так, как если бы он был расположен в каком-нибудь другом месте, а удаление всего комплекса дает личинку, у которой все сегменты тела являются одинаковыми (рис. 22.43).

Поэтому первая проблема состоит в том, чтобы понять, каким образом продукты гомеозисного селекторного гена воздействуют на основной механизм формирования организма, чтобы придать каждому парасегменту его индивидуальность. Продукты гомеозисных селекторных генов представляют собой регуляторные белки, обладающие роднящей их всех особенностью — высококонсервативным связывающимся с ДНК гомеодоменом (60 аминокислот в длину), описанным в главе 7. Соответствующий сегмент в последовательности ДНК называют *гомеобоксом*, от которого и получил свое название путем сокращения комплекс Нох.

Если продукты гомеозисных селекторных генов имеют похожие домены, отвечающие за связывание с ДНК, то как же они обеспечивают различные эффекты, для того чтобы один парасегмент отличался от другого? Ответ, кажется, лежит главным образом в тех частях этих белков, которые не связываются непосредственно с ДНК, но взаимодействуют с другими белками в связавшихся с ДНК комплексах.

Различные партнеры в составе этих комплексов работают совместно с гомеозисными селекторными белками и вместе они определяют, какие именно участки связывания с ДНК будут опознаны и будет ли воздействие на транскрипцию на тех участках выражаться в активации или в подавлении. Таким образом, продукты гомеозисных селекторных генов объединяются с другими регулирующими гены белками и модулируют их действия, для того чтобы придавать каждому парасегменту его неповторимые черты.

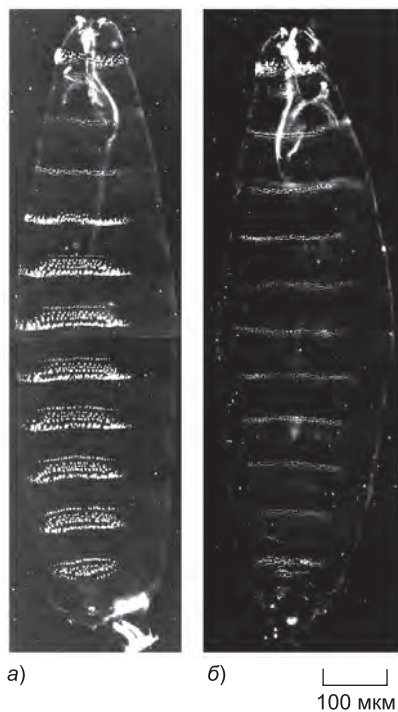


Рис. 22.43. Эффект удаления большинства генов комплекса Bithorax. а) Нормальная личинка дрозофилы в темном поле микроскопа; б) мутантная личинка с удалением большей части комплекса Bithorax. У этого мутанта все парасегменты, следующие за P5-м, имеют облик парасегмента P5. (Заимствовано из G. Struhl, *Nature* 293: 36–41, 1981. С любезного разрешения издательства Macmillian Publishers Ltd.)

22.4.3. Гомеозисные селекторные гены экспрессируются последовательно согласно порядку их следования в комплексе *Нох*

Чтобы понять, как комплекс *Нох* наделяет клетки позиционными значениями, нам нужно также посмотреть, как регулируется экспрессия самих генов *Нох*. Кодированные последовательности восьми гомеозисных селекторных генов в комплексах *Antennapedia* и *Vithorax* распределены среди намного большего количества — всего около 650 000 п. н. — регуляторной ДНК. Эта ДНК включает участки связывания для продуктов генов полярности яйца и генов сегментации. Регуляторная ДНК в комплексе *Нох* выступает в роли интерпретатора многочисленных сигналов позиционной информации, сообщаемой ей всеми этими регуляторными белками. В ответ транскрибируется особая группа гомеозисных селекторных генов, соответствующая данному местоположению.

Данной схеме управления присуща замечательная регулярность. Последовательность, в которой гены линейно расположены на хромосоме, и в комплексе *Antennapedia*, и в комплексе *Vithorax* почти в точности соответствует порядку, в котором они экспрессируются по оси тела (рис. 22.44). Это наводит на мысль о том, что гены последовательно активируются некоторым процессом, который градуирован — по продолжительности или по интенсивности — относительно оси тела и действие которого распространяется по хромосоме градиентом. Наиболее «задний» из генов, экспрессируемых в клетке, обычно доминирует, в силу чего сводит на нет экспрессию ранее активированных «передних» генов и определяет характер сегмента. Регуляторные механизмы, лежащие в основе этих явлений, до сих пор не поняты до конца, но имеют далеко идущие последствия. Мы увидим, что такая последовательная организация экспрессии генов комплекса *Нох* есть фундаментальная особенность, которая оставалась сильно консервативной в ходе эволюции.

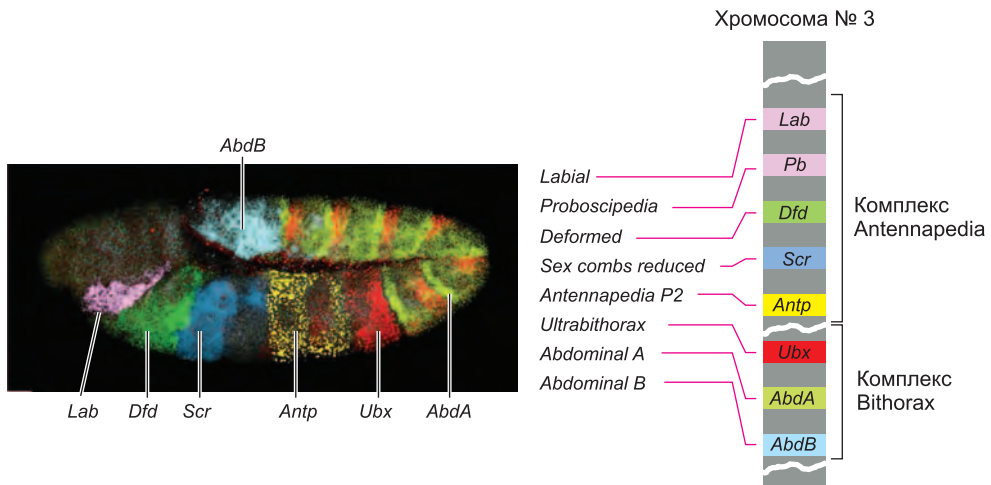


Рис. 22.44. Картины экспрессии в сравнении с местоположениями генов комплекса *Нох* на хромосоме. На схеме показана последовательность генов на каждой из двух частей хромосомного комплекса. Она соответствует, с незначительными отклонениями, пространственной последовательности участков, в которых эти гены экспрессируются, представленной на фотографии зародыша на стадии вытянутой зародышевой полоски, спустя приблизительно 5 часов после оплодотворения. Зародыш окрашен при помощи гибридизации *in situ* с мечеными зондами разных цветов, для того, чтобы определять мРНК-продукты разных *Нох*-генов. (Фотоснимок любезно предоставлен William McGinnis, схема переработана на основе D. Kosman et al., *Science* 305: 846, 2004. С любезного разрешения издательства AAAS.)

Известны сотни других содержащих гомеобокс генов — и в геноме мухи, и в геномах животных других видов, — но большинство из них разбросано и не сгруппировано в комплексы типа комплекса *Нох*. Они выполняют множество разнообразных функций по регуляции генов, но существенная их доля играет роли, близкие к ролям генов *Нох*: они контролируют вариации основного пути развития. Например, нейроны разных классов часто отличаются друг от друга по экспрессии определенных генов из этого большого суперсемейства.

22.4.4. Комплекс *Нох* несет в себе неизменную запись позиционной информации

Пространственную картину экспрессии генов из комплекса *Нох* устанавливают сигналы, действующие на ранних стадиях развития, но последствия их работы длительны. Хотя по ходу развития картина экспрессии подвергается сложным доработкам, комплекс *Нох* ведет себя в каждой клетке так, словно на нем лежит отпечаток неизменной записи положения на передне-задней оси, которое эта клетка занимала в зародыше на ранних стадиях развития. Таким образом, клетки каждого сегмента наделяются долговременной памятью об их местоположении по передне-задней оси тела — другими словами, передне-задним позиционным значением. Как мы увидим в следующем параграфе, след памяти, запечатленный на комплексе *Нох*, управляет специфичным для сегмента тела характером не только личиночных сегментов, но также и структур взрослой мухи, которые производятся на гораздо более поздней стадии из личиночных имагинальных дисков и иных имеющихся у личинки гнезд имагинальных клеток-предшественниц.

Молекулярный механизм клеточной памяти для сохранения такой позиционной информации полагается на регуляторные входные сигналы двух типов. Один — от самих гомеозисных селекторных генов: многие из белков *Нох* самоактивируют транскрипцию своих собственных генов. Другой важнейший сигнал поступает от двух крупных комплементарных групп белков, которые управляют структурой хроматина и названы группами *Polycomb* и *Trithorax*. Если эти регуляторы дефектны, то картина экспрессии гомеозисных селекторных генов сначала выглядит правильно, но когда зародыш становится старше, более не поддерживается в надлежащем виде.

Обе группы регуляторов действуют в противоположных направлениях. Белки группы *Trithorax* необходимы для поддержания транскрипции генов *Нох* в тех клетках, где транскрипция уже включена. Напротив, белки группы *Polycomb* формируют устойчивые комплексы, которые связываются с хроматином комплекса *Нох* и поддерживают его подавленное состояние в тех клетках, где гены *Нох* не активированы в решающий момент времени (рис. 22.45). Работа механизма памяти, связанной с развитием, включает в себя специфические ковалентные модификации гистонов в нуклеосомах, расположенных в окрестностях генов *Нох*, влекущие за собой изменения в состоянии хроматина, которые могут сохраняться в неизменном виде от одного поколения клеток до другого, о чем уже написано в главах 4 и 7.

22.4.5. У позвоночных животных передне-задняя ось тоже управляется селекторными генами *Нох*

Гомологи гомеозисных селекторных генов дрозофилы найдены почти что у каждого изученного вида животных, от кишечнорастных (гидроиды) и нематод до моллюсков и млекопитающих. Примечательно, что эти гены часто бывают

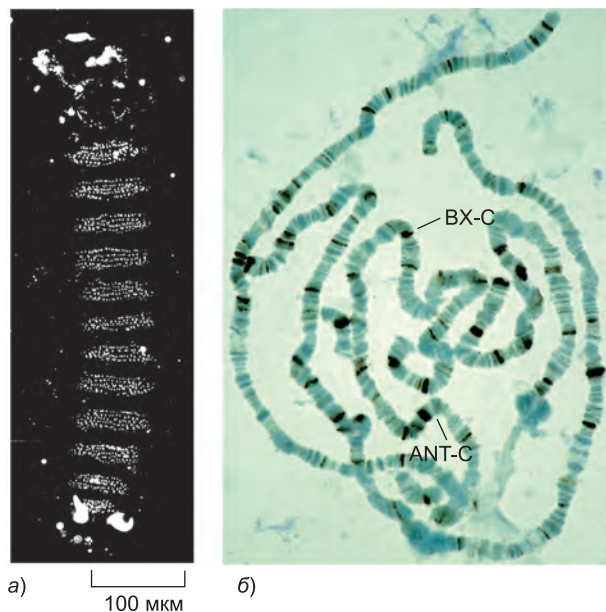


Рис. 22.45. Действие генов группы *Polycomb*. а) Фотография мутантного зародыша, дефектного по гену *Extra sex combs* (*Esc*) его самка-мать также имела дефект этого гена. Данный ген принадлежит к группе *Polycomb*. Практически все сегменты тела видоизменились и напоминают самый задний брюшной сегмент (сравните с рис. 22.43). У мутанта картина экспрессии гомеозисных селекторных генов, исходный вариант которой является практически нормальным, неустойчива в том отношении, что все эти гены вскоре оказываются включенными по всей длине оси тела. б) Нормальная картина связывания белка *Polycomb* с гигантскими хромосомами дрозофилы, проявленная с помощью антител к белку *Polycomb*. Белок связан с комплексами *Antennapedia* (*ANT-C*) и *Bithorax* (*BX-C*), а также приблизительно с 60 другими участками. (Изображение а заимствовано из G. Struhl, *Nature* 293: 36–41, 1981. С любезного разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd. Изображение б заимствовано из B. Zink and R. Paro, *Trends Genet.* 6: 416–421, 1990. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

сгруппированы в кластеры, подобные комплексу насекомых *Hox*. У мыши есть четыре таких комплекса, названных *HoxA*, *HoxB*, *HoxC* и *HoxD*, — каждый расположен на своей хромосоме. В каждом таком комплексе можно определить (по их последовательностям) отдельные гены, являющиеся аналогами определенных членов соответствующей группы дрозофилы. И в самом деле, гены *Hox* млекопитающих могут работать в организме дрозофилы в качестве заменителей ее аналогичных *Hox*-генов. По всему видно, что каждый из четырех кластеров *Hox* млекопитающих, грубо говоря, есть эквивалент полного комплекса насекомого (то есть пары комплексов *Antennapedia* и *Bithorax*) (рис. 22.46).

Порядок расположения генов в каждом из кластеров *Hox* позвоночных по существу тот же самый, что и в комплексе *Hox* насекомых, исходя из чего можно предположить, что все четыре комплекса позвоночных возникли путем дублирования единого искомого комплекса и сохранили его основную организацию. Наиболее впечатляющим является тот факт, что когда посредством гибридизации *in situ* исследуют картины экспрессии генов *Hox* в зародыше позвоночного, оказывается, что члены каждого комплекса экспрессируются вдоль оси тела по ряду от головы к хвосту — точно так же, как и у дрозофилы (рис. 22.47). Картина эта наиболее

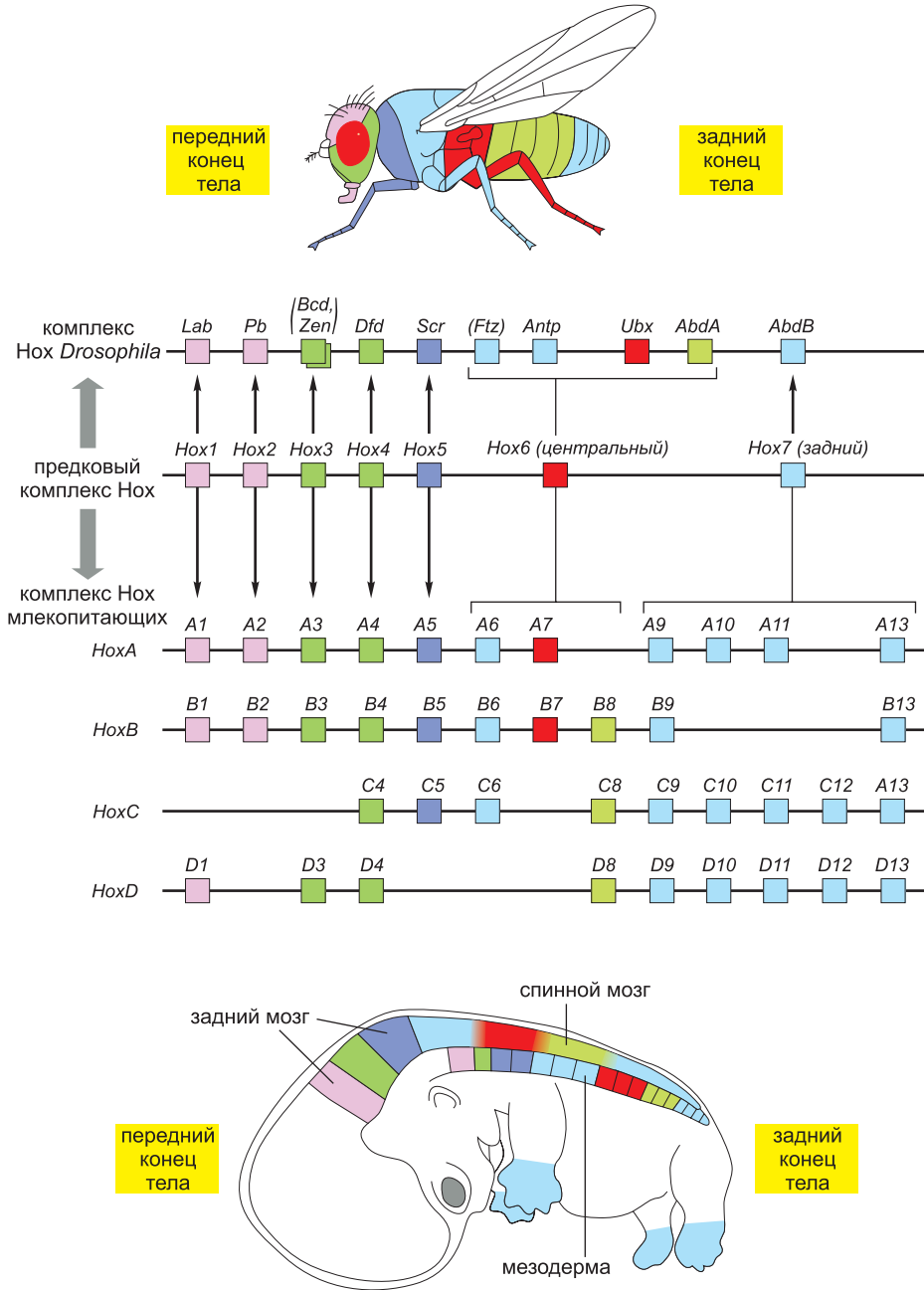


Рис. 22.46. Комплекс Нох насекомого и комплексы Нох млекопитающего в сравнении и соотнесении с областями тела. На верхней линии показаны гены комплексов Antennapedia и Bithorax дрозофилы в их хромосомном порядке; ниже показаны соответствующие гены четырех комплексов Нох млекопитающих, также в порядке их расположения на хромосоме. На картинках мухи и млекопитающего сверху и снизу рисунка в упрощенной форме цветом обозначены области экспрессии генов у этих животных. Однако детали картин экспрессии зависят от стадии развития организма и, к тому же, несколько изменяются от одного комплекса Нох млекопитающих к другому. Кроме того, во многих случаях гены, показанные здесь

ясно просматривается в нервной трубке, однако проглядывает также и в других тканях, особенно в мезодерме. За малыми исключениями, такая анатомическая упорядоченность соответствует хромосомной упорядоченности генов в каждом комплексе, и соответствующие гены в четырех разных комплексах *Нох* имеют почти идентичные области экспрессии относительно передне-задней оси тела.

Области экспрессии генов определяют детальную систему соответствий между областями тела насекомого и областями тела позвоночного (см. рис. 22.46). Пара-сегменты мухи соответствуют подобным же образом размеченному ряду сегментов в передней части зародыша позвоночного. Наиболее четко они разграничены в заднем мозге (см. рис. 22.46 и 22.47), где их называют *ромбомерами*. В боковых по отношению к заднему мозгу тканях сегментацию можно обнаружить в виде ряда *жаберных дуг*, заметных в зародышах всех позвоночных, — предшественников системы жабр у рыб и челюстей со структурами шеи у млекопитающих; каждая пара ромбомер в заднем мозге соответствует одной жаберной дуге. В заднем мозге, как и у дрозофилы, границы областей экспрессии многих из генов *Нох* стоят в один ряд с границами анатомических сегментов.

Продукты генов *Нох* млекопитающих, кажется, определяют позиционные значения, которые управляют расположением частей заднего мозга, шеи и нервного ствола (а также и некоторых других частей тела) относительно передне-задней оси. Как и у дрозофилы, когда дистальный ген *Нох* искусственно экспрессируется в проксимальной области, он может придать проксимальной ткани характер дистальной. И наоборот, потеря дистальных генов *Нох* позволяет дистальной ткани, где они обычно экспрессируются, принять характер проксимальной (рис. 22.48). Из-за избыточности генов четырех групп *Нох* превращения, наблюдаемые у мутантных по гену *Нох* мышей, не всегда столь прямолинейны, а зачастую бывают и неполными. Тем не менее ясно, что муха и мышь используют, по существу, один и тот же механизм для придания индивидуальных характеристик последовательным областям, идущим вдоль их передне-задней оси (по крайней мере, вдоль ее части).

Заключение

*Сложное строение организма взрослого животного обусловлено модулируемым повторением структур нескольких основных типов. Так, на картину экспрессии генов, повторяющуюся в каждом сегменте, накладывается последовательная картина экспрессии гомеозисных селекторных генов, которые придают каждому сегменту их неповторимый облик. Гомеозисные селекторные гены кодируют связывающиеся с ДНК белки из семейства транскрипционных факторов, содержащих гомеодомен. В геноме дрозофилы они объединены в две группы, называемые комплексами *Antennapedia* и *Bithorax*, которые считают*

как экспрессируемые в передней области, экспрессируются также и далее, перекрывая области более дистальных генов *Нох* (см., например, рис. 22.47). Эти комплексы, как предполагают, эволюционировали следующим образом: сначала у некоторого общего предка червей, мух и позвоночных единственный исходный гомеозисный селекторный ген подвергся многократному дублированию и сформировал ряд таких генов в тандеме — предковый комплекс *Нох*. В сублинии дрозофилы этот единый комплекс разделился на отдельные комплексы *Antennapedia* и *Bithorax*. Тем временем в линии, ведущей к млекопитающим, целый комплекс неоднократно дублировался и дал четыре комплекса *Нох*. Параллелизм не абсолютен, потому что, очевидно, с тех пор как комплексы разошлись, некоторые гены были дублированы, другие потеряны, а третьи задействованы в новых для других целей (гены в круглых скобках в верхней линии). (Рисунок построен на основе схемы, любезно предоставленной William McGinnis.)

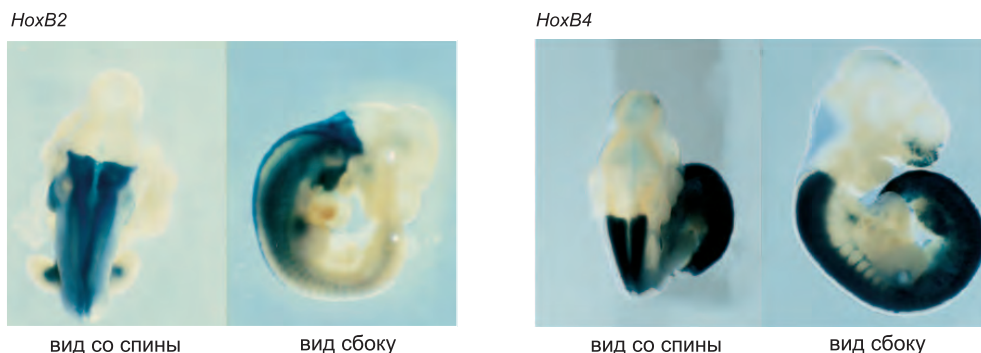


Рис. 22.47. Области экспрессии генов *Hox* у мыши. На фотографиях представлены целые зародыши, показывающие области экспрессии двух генов из комплекса *HoxB* (синяя окраска). Эти области можно проявить при помощи гибридизации *in situ* или, как в данных примерах, путем конструирования трансгенных мышей, в геноме которых регуляторная последовательность гена *Hox* сцеплена с геном-репортером *LacZ*, продукт которого обнаруживается гистохимическими средствами. Каждый из генов экспрессируется на большом протяжении ткани с резко очерченной передней границей. Чем раньше расположен каждый такой ген в своем хромосомном комплексе, тем проксимальнее будет анатомический рубеж его экспрессии. Таким образом, с незначительными исключениями, анатомическая граница последовательных генов формируют вложенную группу, упорядоченную согласно порядку расположения генов в хромосомном комплексе. (Изображения любезно предоставлены Robb Krumlauf.)

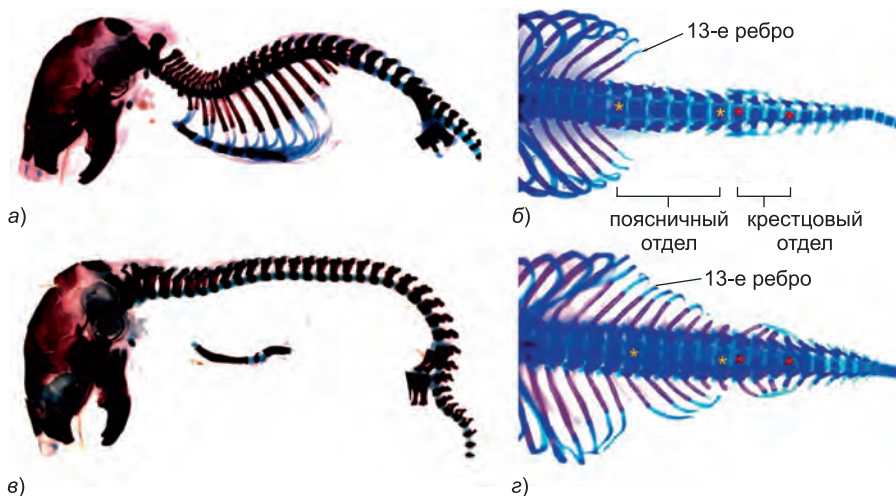


Рис. 22.48. Управление дифференцировкой вдоль передне-задней оси мыши генами *Hox*. а, б) Нормальная мышь имеет приблизительно 65 позвонков, отличающихся по структуре согласно их положению по оси тела: 7 шейных (шея), 13 грудных (с ребрами), 6 поясничных (охваченных желтыми звездочками на видах б и г), 4 крестцовых (замкнутых красными звездочками на видах б и г) и приблизительно 35 хвостовых (хвост). а) Вид сбоку. б) Вид со спины; для ясности у всех препаратов удалены конечности. в) Ген *HoxA10* обычно экспрессируется в поясничной области (вместе с его паралогами *HoxC10* и *HoxD10*); здесь он искусственно экспрессируется в развивающейся позвоночной ткани по всей оси тела. В результате все шейные и грудные позвонки приобрели характер поясничных. г) Наоборот, когда ген *HoxA10* удален, наряду с генами *HoxC10* и *HoxD10*, позвонки, которые в норме должны иметь характер поясничных и крестцовых, принимают вместо этого характер грудных. (Изображения а и в заимствованы из M. Carapico et al., *Genes Dev.* 19: 2116–2121, 2005. С любезного разрешения издательства Cold Spring Harbor Laboratory Press; изображения б и г взяты из D. M. Wellik and M. R. Capocchi, *Science* 301: 363–367, 2003. С любезного разрешения издательства AAAS.)

двумя частями единого исходного комплекса *Нох*, который разделился в ходе эволюции мухи. В обоих комплексах гены расположены в виде последовательности, которая соответствует последовательности областей их экспрессии по оси тела. Экспрессия генов *Нох* начинается в зародыше. Впоследствии она поддерживается действием связывающихся с ДНК белков из групп *Polycomb* и *Trithorax*, которые запечатлевают в хроматине комплекса *Нох* наследуемую запись о состоянии его активации в зародыше. Комплексы *Нох*, гомологичные таковым у дрозофилы, найдены у животных практически всех изученных типов, от кишечнополостных до человека, и они, по-видимому, играют эволюционно консервативную роль в дифференцировке сегментов вдоль передне-задней оси тела. Млекопитающие имеют четыре комплекса *Нох*, и каждый из них демонстрирует подобное соответствие между последовательным расположением генов на хромосоме и их последовательной картиной экспрессии вдоль оси тела.

22.5. Органогенез и структурирование конечностей и придатков²

Итак, мы узнали, что все сегменты личинки насекомого представляют собой разновидности одной и той же базовой структуры, при этом гены сегментации определяют основной повторный модуль, а гомеозисные селекторные гены придают каждому сегменту его индивидуальный характер. То же самое относится и к основным придаткам тела взрослого насекомого — лапкам, крыльям, антеннам, частям ротового аппарата и наружным половым органам: они тоже являются разновидностями общей основной структуры. На более тонком уровне детализации мы встречаем все то же изумительное упрощение: придатки — и многие другие части тела — состоят из субструктурных элементов, которые сами являются разновидностями небольшого числа основных эволюционно консервативных узлов.

В этом параграфе мы проследуем за ходом развития дрозофилы от начала и до конца, фокусируя наше внимание на каждой его стадии, чтобы исследовать один лишь пример многих родственных структур, которые развиваются параллельно. По мере нашего продвижения мы укажем на параллели со структурами позвоночных, которые развиваются подобным же образом, используя не только те же общие стратегии, но и многие из тех же специфических молекулярных механизмов. Но чтобы не прерывать наш рассказ позже, нам нужно сначала вкратце обрисовать некоторые ключевые экспериментальные методы, позволяющие нам совладать с особой проблемой, которая возникает каждый раз, когда мы стараемся выяснить, как гены управляют развитием на более поздних его стадиях.

22.5.1. Условные и индуцированные соматические мутации позволяют анализировать функции генов на поздних стадиях развития организма

Как мы подчеркивали ранее, один и тот же ген может неоднократно использоваться во многих различных ситуациях — в разных областях тела и в разное

² В оригинале используется термин «appendage», который переводится как «придаток» и относится ко всем подвижным выростам тела насекомого. В русскоязычной литературе по традиционной зоологии беспозвоночных у насекомых различают конечности, т. е. подвижные трубчатые выросты тела, поделенные на членики, и собственно придатки (ложные ноги, трахейные жабры и особенно крылья). Далее в этой главе мы следуем оригиналу и используем термин «придаток», подразумевая под этим как придатки, так и конечности. — *Прим. ред.*

время. Часто мутации с потерей функции настолько сильно нарушают развитие на ранних его стадиях, что зародыш или личинка умирает, лишая нас возможности видеть, как эта мутация затронула бы более поздние процессы.

Один из обходных путей этой проблемы состоит в изучении кондиционных мутаций. Если мы имеем, к примеру, температурочувствительную мутацию в интересующем нас гене, то мы можем поддерживать животное в течение всего раннего периода развития при низкой температуре, когда продукт этого гена работает нормально, а затем, чтобы выявить поздние функции этого продукта, выводить его из строя каждый раз, когда нам заблагорассудится, поднимая температуру.

В число других методов входит фактическое видоизменение ДНК в подгруппах клеток на поздних стадиях развития — своего рода генетическая операция на отдельных клетках, которая позволяет в выбранное время в ходе развития производить группы мутантных клеток с заданным генотипом. Эту искусную операцию можно претворить в жизнь путем *индуцированной соматической рекомбинации*, получающийся организм называют **генетическим мозаиком**. Используя генетических мозаиков, мы можем не только обойти проблему летальности, когда функция гена нарушается в организме в целом; мы можем также исследовать роль гена в межклеточных взаимодействиях, сопоставляя мутантные и немутантные клетки. Мы можем проверить, например, используют ли клетки продукт гена, чтобы посылать сигнал соседям, или чтобы получать от них сигнал, или ни то, ни другое. А вызывая генетическое изменение в разные моменты времени, мы можем точно узнать, когда именно ген включается, чтобы произвести определенный эффект.

Применяемый сегодня метод осуществления индуцированной соматической рекомбинации основан на использовании трансгенных мух, которых скрещивают так, чтобы они содержали полученные из дрожжей генетические элементы двух типов: ген сайтспецифической рекомбиназы FLP и последовательность-мишень рекомбиназы FLP (FRT). Как правило, животное гомозиготно по вставке последовательности FRT вблизи центромеры на выбранном плече хромосомы, тогда как конструкция, состоящая из гена *Flp* под промотором теплового шока, вставляется в каком-либо другом месте генома. Если такой трансгенный зародыш или личинку подвергнуть тепловому шоку (то есть выдержать при высокой температуре в течение нескольких минут), то индуцируется экспрессия гена *Flp* и этот фермент катализирует соматический кроссинговер и рекомбинацию между материнскими и отцовскими хромосомами на участке FRT. Если тепловой шок был достаточно умеренным, то это событие произойдет только в одной или нескольких клетках, расположенных в случайном порядке. Как объясняется на [рис. 22.49](#), если животное было гетерозиготно по интересующему нас гену в области, затрагиваемой кроссинговером, то данный процесс может закончиться парой дочерних клеток, которые будут гомозиготными: одна получает две копии материнского аллеля этого гена, другая — две отцовские копии его аллеля. Каждая из таких дочерних клеток будет расти и делиться как обычно и даст клональные линии гомозиготного потомства.

Соматический кроссинговер можно выявить, если животное выбрано так, чтобы быть гетерозиготным также и по генетическому маркеру, который лежит на том же плече хромосомы, что и интересующий нас ген, и поэтому подвергается соматической рекомбинации вместе с ним. Таким образом, с помощью этой методики можно получать наглядно маркированные гомозиготные мутантные клоны клеток. Как и пара FLP и FRT, аналогичная пара рекомбинационных элементов *Cre* и *Lox* может быть использована также и в других конфигурациях для включения

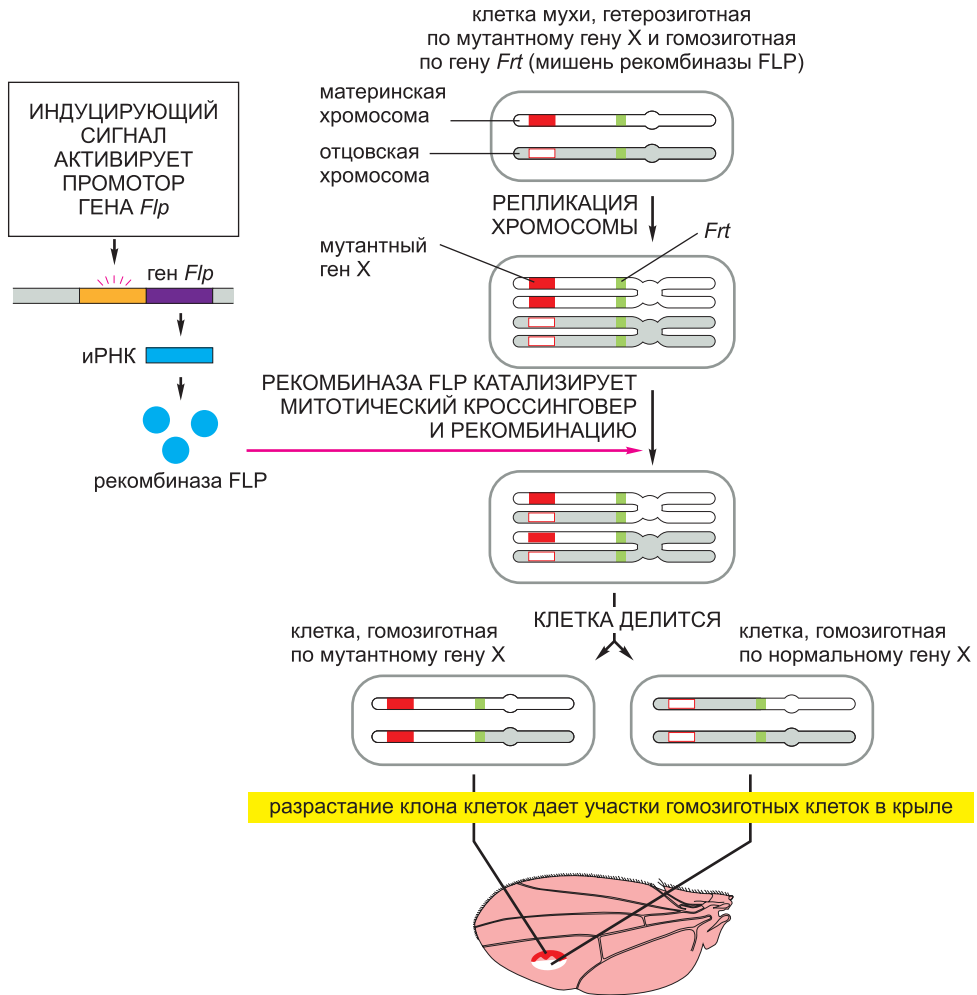


Рис. 22.49. Создание мутантных клеток посредством индуцированной соматической рекомбинации. На схемах прослеживается путь дифференцировки одной пары гомологичных хромосом: одна от отца (*затенена*), другая от матери (*не затенена*). Поблизости от центромер этих хромосом вставлен элемент *Frt* (*зеленый*), а дальше на том же плече хромосомы — локус интересующего нас гена X. Отцовская хромосома (в этом примере) несет аллель дикого типа гена X (*пустой красный прямоугольник*), тогда как материнская хромосома несет рецессивный мутантный аллель (*заполненный красный прямоугольник*). Рекомбинация путем обмена ДНК между материнской и отцовской хромосомами, катализируемая рекомбиназой FLP, может породить пару дочерних клеток, одна из которых будет содержать две копии дикого типа гена X, другая — две мутантные копии. Для облегчения опознавания клеток, в которых рекомбинация произошла, могут быть выбраны материнская и отцовская хромосомы, несущие различные генетические маркеры (здесь не показаны), способные производить видимый продукт, и размещенные на хромосоме таким образом, чтобы рекомбинация, затрагивающая локус маркера, приводила к видимому изменению внешнего вида клеток и служила сигналом о том, что ген X также подвергся рекомбинации.

или выключения экспрессии какого-нибудь гена (см. рис. 5.79). Благодаря этим методам можно, например, обнаружить, что происходит, когда клетки производят

заданную сигнальную молекулу в непривычном участке или когда они лишаются определенного рецептора.

Вместо того чтобы использовать промотор теплового шока для осуществления экспрессии рекомбиназы FLP, можно употребить копию регуляторной последовательности каждого гена из нормального мушиного генома, который экспрессируется в некоторое интересующее нас время и в нужном нам месте. В таком случае событие рекомбинации будет запущено, а мутантные клетки созданы только на тех участках, где этот ген экспрессируется в норме. Вариант этого метода предлагает применять не механизм генетической рекомбинации, а заимствованный у дрожжей механизм транскрипционного управления, чтобы обратимо переключать экспрессию выбранного гена мухи согласно нормальной картине экспрессии некоторого другого выбранного мушиного гена (рис. 22.50).

Выключая или включая функции гена в определенные моменты времени и в нужных местах такими способами, ученые в области биологии развития могут приступить к расшифровке системы генетически задаваемых сигналов и ответов на них, которая управляет развитием всех органов тела.

22.5.2. Части тела взрослой мухи развиваются из имагинальных дисков

Внешние структуры взрослой мухи формируются главным образом из зачатков, называемых **имагинальными дисками (imaginal discs)**, — групп клеток, которые остаются явно недифференцированными, в каждом сегменте личинки. Диски представляют собой мешочки эпителия, по форме напоминающие сморщенные и сплюснутые воздушные шары и непрерывно перетекающие в эпидермис (поверхностный слой) личинки. Всего их 19: 9 пар дисков, идущих по обе стороны личинки, и 1 диск на средней линии (рис. 22.51). Они растут и развивают свою внутреннюю структуру по мере роста личинки, и наконец, в процессе метаморфоза они выворачиваются наизнанку, вытягиваются, бурно дифференцируются и формируют эпидермальный слой взрослого насекомого. Глаза и антенны развиваются из одной пары дисков, крылья и часть груди — из другой, первая пара лапок — из следующей и так далее.

22.5.3. Гомеозисные селекторные гены необходимы для хранения позиционной информации в клетках имагинальных дисков

Клетки одного имагинального диска выглядят точно так же, как и другого, но эксперименты с пересадкой показывают, что фактически они уже регионально предопределены и неэквивалентны. Если один имагинальный диск личинки пересаживают в положение другого и личинку затем оставляют спокойно проходить метаморфоз, то оказывается, что пересаженный диск автономно дифференцируется в структуру, соответствующую его первоначальному местоположению: вне зависимости от своего нового участка диск крыла даст структуры крыла, диск жужжальца — структуры жужжальца и т. д. Это наблюдение показывает, что клетки имагинального диска управляются памятью об их первоначальном положении. При помощи более сложной процедуры последовательных пересадок, которая позволяет клеткам имагинального диска разрастаться в течение более длительного промежутка времени перед дифференцировкой, можно показать, что данная память клетки устойчиво наследуется (с редкими огрехами) на протяжении сколь угодно большого числа клеточных поколений.

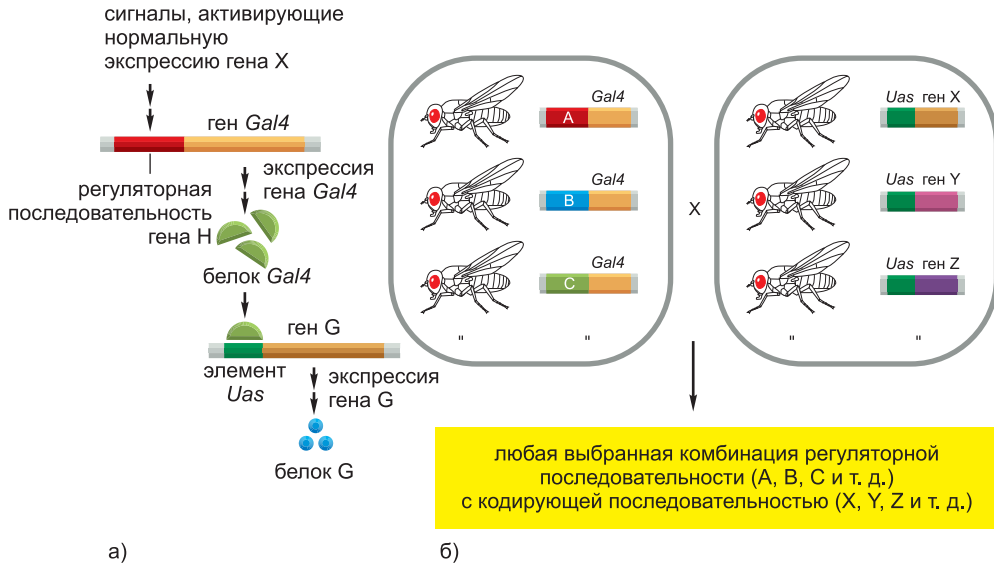


Рис. 22.50. Метод *Gal4/Uas* для осуществления управляемой неправильной экспрессии генов у *дрозофилы*. Данный метод позволяет запускать экспрессию выбранного гена G в тех местах и в те моменты времени, где обычно экспрессируется некоторый другой ген дрозофилы H. а) Создается трансгенное животное с двумя отдельными конструкциями, вставленными в его геном. Одна вставка состоит из специфической для дрожжей регуляторной последовательности, называемой элементом *Uas* (*upstream activating sequence* — вышележащая активирующая последовательность), сопряженной с копией кодирующей последовательности гена G. Другая вставка содержит кодирующую последовательность гена *Gal4* дрожжей, продукт которого представляет собой специфический для дрожжей регуляторный белок, который связывается с элементом *Uas*; такая вставка *Gal4* помещена рядом с регуляторной областью гена H, и управляется ею. Везде, где обычно экспрессируется ген H, производится также и белок Gal4, который сразу же вызывает транскрипцию гена G. б) Хотя можно достигнуть того же результата, связывая копию регуляторной последовательности гена H непосредственно с кодирующей последовательностью гена G, подход *Gal4/Uas* является более эффективной в общем и целом стратегией. Тут строятся две отдельные «библиотеки» трансгенных мух: одна содержит вставки *Gal4*, приводимые в действие разнообразными регуляторными последовательностями разных генов A, B, C и т. д., другая содержит вставки *Uas*, побуждающие к действию разнообразные кодирующие последовательности X, Y, Z и т. д. Путем скрещивания мухи из одной библиотеки с мухой из другой любая кодирующая последовательность может быть функционально сопряжена с любой регуляторной последовательностью по выбору. Чтобы получить библиотеку мух с вставками гена *Gal4* в полезных участках, сначала получают мух со вставками гена *Gal4* в случайных местоположениях в их геноме. Затем их скрещивают с мухами, содержащими элемент *Uas*, сцепленный с геном-репортером с легко обнаружимым продуктом. Экспрессия этого репортера показывает, вставлен ли ген *Gal4* на участке, который подводит его экспрессию под контроль интересующего нас энхансера; мухи, демонстрирующие интересную картину экспрессии репортера, сохраняются и изучаются. Этот прием называют методом «ловушки энхансера», потому что он позволяет найти и охарактеризовать скрытые в геноме любопытные регуляторные последовательности.

Гомеозисные селекторные гены — существенные компоненты механизма такой памяти. Если на любой стадии длительного промежутка времени, предшествующего дифференцировке во время метаморфоза, обе копии каждого гомеозисного селекторного гена удалить (путем индуцированной соматической рекомбинации) из клона клеток имагинального диска, которые в норме экспрессировали бы этот ген, то эти клетки будут дифференцироваться в неправильные структуры, как если бы они принадлежали

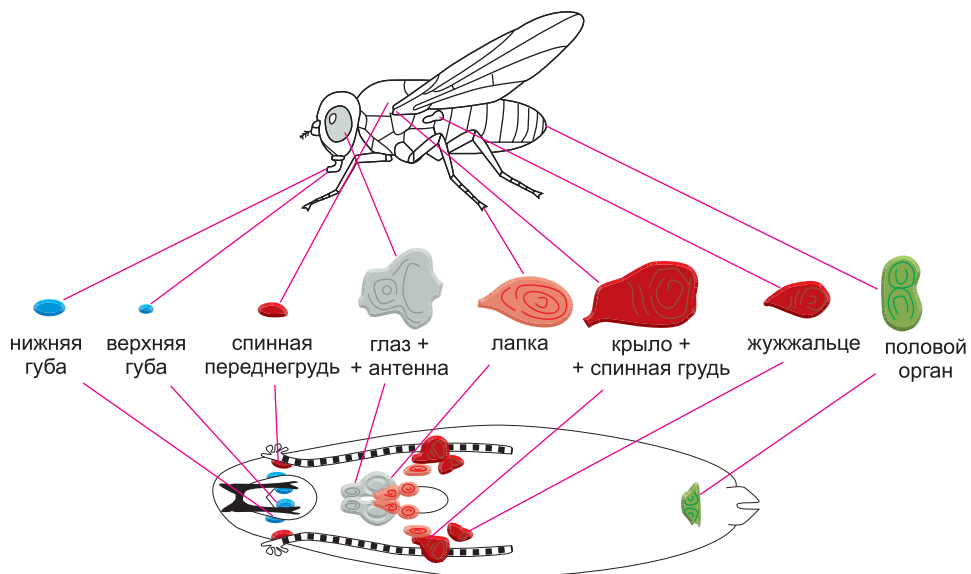


Рис. 22.51. Имагинальные диски в личинке дрозофилы и развивающиеся из них структуры взрослого насекомого. (Переработано на основе J.W.Fristrom et al., in *Problems in Biology: RNA in Development* [E. W. Hanley, ed./], p. 382. Salt Lake City: University of Utah Press, 1969.)

иному сегменту тела. Это и другие наблюдения указывают на то, что память каждой клетки о позиционной информации зависит от непрерывного действия гомеозисных селекторных генов. Эта память, сверх того, проявляется функционально независимым для клеток образом — каждая клетка, кажется, поддерживает свое состояние индивидуально, в зависимости от своей собственной истории и, конечно, своего генома.

22.5.4. Специфические регуляторные гены определяют те клетки, которые сформируют придаток

Теперь нам стоит взглянуть на то, как каждый придаток развивает свою внутреннюю структуру. Наглядным примером нам послужит крыло насекомого.

Процесс этот начинается с работы ранних механизмов конфигурирования, которые мы уже разобрали. Передне-задняя и дорсо-вентральная системы сигналов в молодом зародыше в действительности размечают ортогональную сетку в бластодерме — в форме границ экспрессии генов: дорсо-вентральной, передне-задней и расположенных через определенные периоды сегментных. В некоторых точках пересечения этих границ получается такая комбинация экспрессируемых генов, что группа клеток встает на путь развития имагинального диска.

На молекулярном уровне это соответствует включению экспрессии задающих имагинальный диск регуляторных генов. В большинстве дисков включается ген *Distal-less*. Он кодирует регуляторный белок, который необходим для поддержания роста, требуемого для создания удлиненного придатка с проксимально-дистальной осью — скажем, лапки или антенны. В случае его отсутствия такие придатки не в состоянии сформироваться, а когда он искусственно экспрессируется в неправильных участках, получают буквально «неуместные» придатки. Ген *Distal-less* экспрессируется подобным же образом в развивающихся конечностях и прочих

придатках большинства доселе изученных видов беспозвоночных и позвоночных (рис. 22.52). В диске глаза соответствующую роль выполняет другой ген, *Eyeless* (наряду с двумя близкородственными генами); у него также есть функциональные гомологи — это гены *Pax6*, которые обеспечивают развитие глаза у других видов (см. главу 7).



Рис. 22.52. Экспрессия гена *Distal-less* в развивающихся лапках и аналогичных придатках у разных видов. Личинки морского ежа (а) и моли (б). (Изображение а заимствовано из G. Panganiban et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 94: 5162–5166, 1997. С любезного разрешения National Academy of Sciences; изображение б взято из G. Panganiban, L. Nagy and S. B. Carroll, *Curr. Biol.* 4: 671–675, 1994. С великодушного позволения издательства Elsevier.)

22.5.5. Диск крыла насекомого разделен на компартменты

В самом начале группа клеток, формирующая имагинальный диск, имеет зачатки элементов внутренней структуры, унаследованные от более раннего процесса разграничения отдельных частей организма. Например, клетки в задней половине зачатка диска крыла (и в большинстве других зачатков в имагинальных дисках) экспрессируют ген полярности сегментов *Engrailed*, тогда как таковые в передней половине диска не делают этого. Начальные асимметрии закладывают основы для последующего более детального развития структуры точно так же как в яйце и зародыше на ранних стадиях развития.

Секторы диска крыла, заданные этими ранними различиями в экспрессии генов, соответствуют определенным частям будущего крыла. Задняя, экспрессирующая ген *Engrailed* область сформирует заднюю половину крыла, тогда как область, которая не экспрессирует ген *Engrailed*, сформирует его переднюю половину. Тем временем дорсальная часть диска крыла экспрессирует ген по имени *Apterous*, тогда как брюшная половина не делает этого. В процессе метаморфоза диск складывается по линии, отделяющей эти области, и дает крыло, у которого дорсальный слой клеток получен из области, экспрессирующей ген *Apterous*, а вентральный слой — из области, не экспрессирующей ген *Apterous*. Кромка крыла, где эти два эпителиальных слоя сходятся, соответствует границе области экспрессии гена *Apterous* в диске (рис. 22.53).

Клетки диска, включив экспрессию генов, которые отмечают их как передние или как задние, как дорсальные или как вентральные, сохраняют это предписание, пока диск растет и развивается. Поскольку клетки чувствительны к этим различиям и избирательны в своем выборе соседей, формируются резко очерченные границы между четырьмя получающимися в итоге группами клеток, без какого-либо смеше-

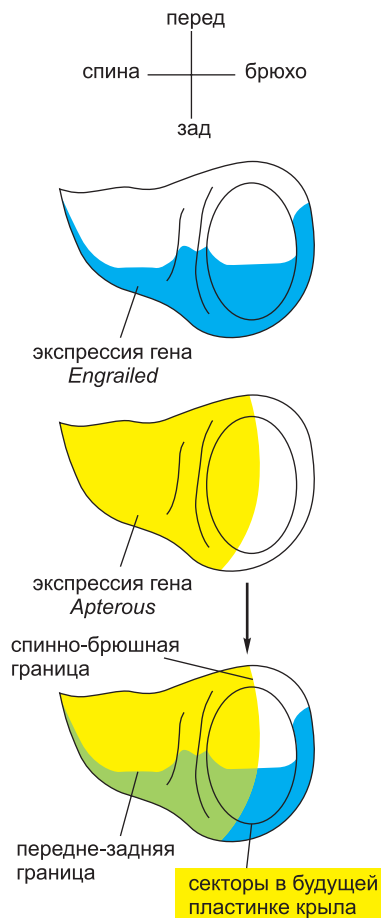


Рис. 22.53. Области экспрессии генов в имагинальном диске крыла, определяющие секторы будущего крыла. Собственно пластинка крыла развивается из овальной формы области вправо и, как показано на рисунке, разделяется на четыре сектора за счет экспрессии генов *Apterous* и *Engrailed*.

ния на границах. Так как между этими группами не происходит никакого обмена клетками, четыре соответствующих сектора диска называют **компартаментами** (рис. 22.54).

22.5.6. Диск крыла формируется объединенными усилиями четырех уже знакомых нам путей передачи сигналов: *Wingless*, *Hedgehog*, *Dpp* и *Notch*

По каждой из границ между компартаментами крыла — передне-задней границе, определяемой геном *Engrailed*, и дорсо-вентральной границе, определяемой геном *Apterous*, клетки в разных состояниях противостоят друг другу и взаимодействуют, создавая узкие полоски специализированных клеток. Такие пограничные клетки вырабатывают новые сигналы, призванные организовать последующий рост и более тонкую структуру придатка.

Клетки в заднем компартменте крыла экспрессируют сигнальный белок *Hedgehog*, но сами не способны реагировать на него. Клетки в переднем компартменте могут реагировать на сигнал *Hedgehog*. Поскольку белок *Hedgehog* действует только на коротком расстоянии, путь приема сигнала активирован только в узкой полоске клеток, пролегающей непосредственно перед границей компартамента, где передние и задние клетки стоят бок о бок. Данные пограничные клетки отвечают включением экспрессии другой сигнальной молекулы, белка *Dpp*, с которым мы уже сталкивались ранее при рассмотрении процесса установления дорсо-вентральной оси раннего зародыша (рис. 22.55).

В новом для него контексте белок *Dpp* действует почти таким же образом, как и прежде: он распространяет свои эффекты наружу от пограничных клеток (за счет диффузии через цитонемы либо путем переноса от клетки к клетке посредством экзоцитоза или эндоцитоза) и устанавливает градиент морфогена для управления последующей, более подробной, схемой роста и картиной экспрессии генов.

На дорсо-вентральной границе компартиментов происходят аналогичные события (см. рис. 22.55). Здесь, на будущей кромке крыла, за счет взаимосвязи ближнего действия, опосредствуемой сигнальным путем *Notch*, создается полоска пограничных клеток, которые производят другой морфоген, белок *Wingless* — тот же сигнальный фактор, принадлежащий к семейству *Wnt*, что действовал ранее при установлении передне-задней оси каждого зародышевого сегмента. Градиенты сигналов *Dpp* и *Wingless*, наряду с другими сигналами и с асимметриями экспрессии генов, которые мы уже обсуждали, совместными усилиями обеспечивают

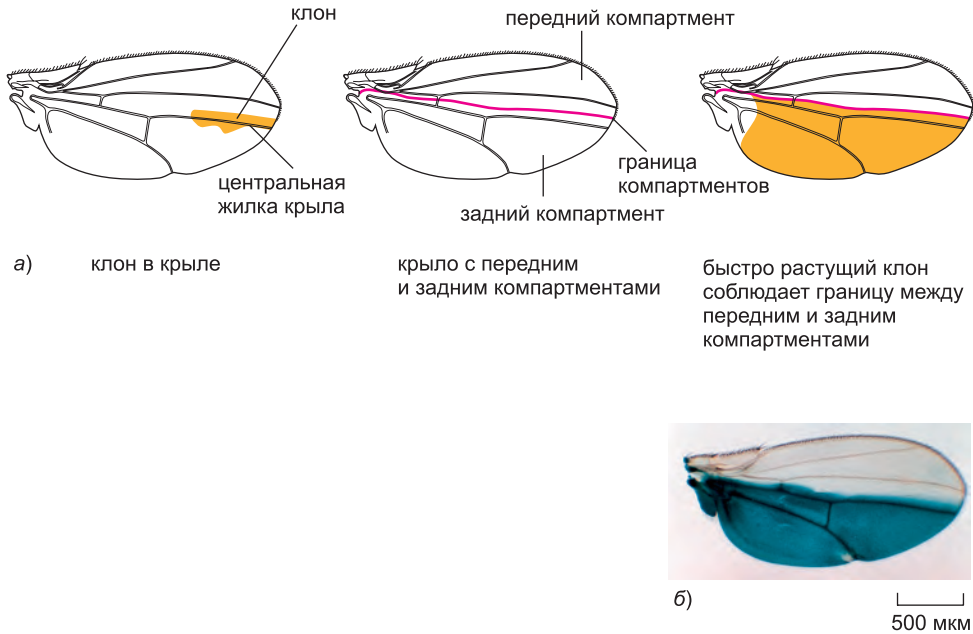


Рис. 22.54. Компартменты в крыле взрослой мухи. а) Формы меченых клонов в крыле дрозофилы показывают существование границ компартментов. Их края прямые в области примыкания к такой границе. Даже когда меченый клон генетически видоизменили так, чтобы он рос быстрее, чем остальная часть крыла, и поэтому был очень большим, то он взаимодействовал с границей таким же образом (правый рисунок). Обратите внимание, что граница компартмента не совпадает с центральной жилкой крыла. б) Картина экспрессии гена *Engrailed* в крыле, проявленная тем же способом, что и для взрослой мухи, представленной на рис. 22.41. Граница компартмента совпадает с границей области экспрессии гена *Engrailed*. (Изображение а переработано на основе F. H. C. Crick and P. A. Lawrence, *Science* 189: 34–347, 1975. С любезного разрешения издательства AAAS; изображение б любезно предоставлено Chihiro Nana и Tom Kornberg.)

экспрессию других генов в точно предопределенных местоположениях в пределах каждого компартмента.

22.5.7. Размер каждого компартмента регулируется взаимодействиями между его клетками

Одной из наиболее загадочных и плохо изученных сторон развития животных остается управление ростом: почему каждая часть тела растет до точно заданного размера? Эту проблему замечательно отображают имагинальные диски дрозофилы. С помощью индуцированной соматической рекомбинации можно, например, создавать группы клональных клеток, которые разрастаются быстрее, чем все остальные клетки развивающегося органа. Клон может расти и занять почти весь компартмент, в котором он находится, и все же он не переходит границу компартмента. Его на удивление быстрый рост не оказывает почти никакого влияния на конечный размер компартмента, его форму и даже на детали его внутренней структуры (см. рис. 22.54). Очевидно, клетки компартмента каким-то образом взаимодействуют друг с другом и определяют, когда его рост должен остановиться, причем каждый компартмент ведет себя в этом отношении как самостоятельная регуляторная единица.

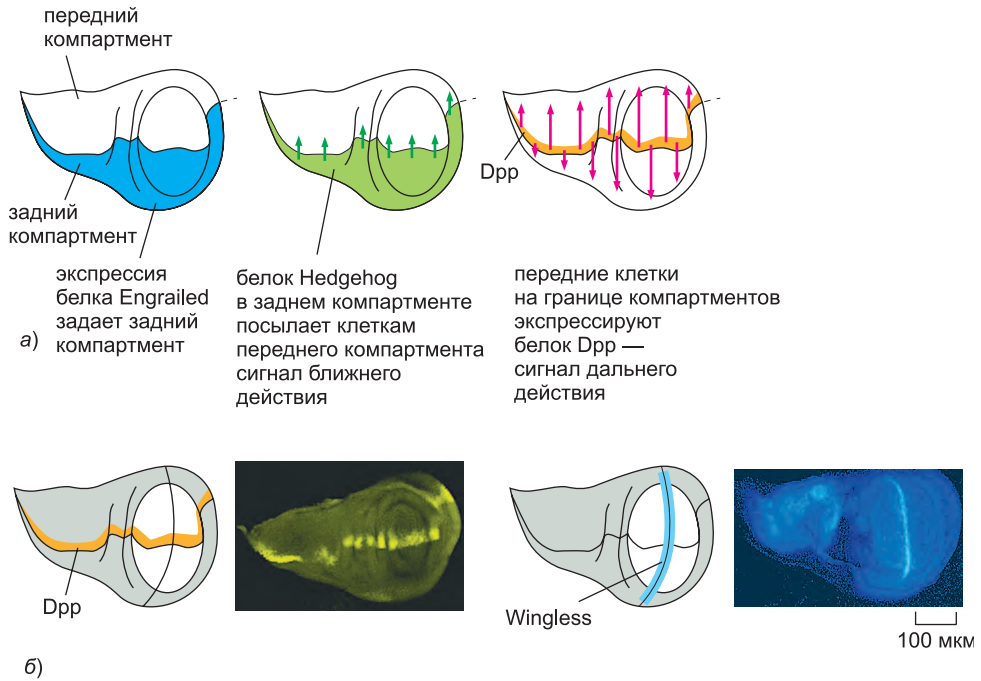


Рис. 22.55. Морфогенетические сигналы, вырабатываемые на границах компартментов в имагинальном диске крыла. а) Создание сигнальной области Dpp на передне-задней границе компартмента посредством передаваемого белком Hedgehog взаимодействия между передними и задними клетками. Аналогичным образом опосредованное белком Notch взаимодействие между дорсальными и вентральными клетками создает сигнальную область Wingless (Wnt) по дорсо-вентральной границе. б) Наблюдаемые картины экспрессии белков Dpp и Wingless. Хотя вроде бы ясно, что белки Dpp и Wingless выступают в роли морфогенов, в точности еще не известно, как они распространяются из своих источников. Отмечено, что клетки в имагинальном диске имеют длинные цитонемы, позволяющие им ощущать сигналы на расстоянии. Так что, может быть, это принимающая клетка отправляет свои датчики к источнику сигнала, а не сигнал переносится к принимающей клетке. (Фотоснимки б заимствованы благодаря любезности Sean Carroll и Scott Weatherbee из S. J. Day and P. A. Lawrence, *Development* 127: 2977–2987, 2000. С великодушного разрешения The Company of Biologists.)

Первый вопрос — регулируется ли размер компартмента в соответствии с заданным числом содержащихся в нем клеток. Чтобы ускорить или замедлить деление клеток без изменения скорости роста их самих или ткани, можно прибегнуть к мутациям в компонентах механизмов управления клеточным циклом. Это выливается в неестественно большие числа неестественно маленьких клеток или в противоположную картину, но размер, то есть площадь компартмента, остается практически неизменным. Таким образом, регулирующий механизм, по-видимому, зависит от сигналов, которые указывают физическое расстояние между одной частью компартмента и другой, и от ответов клеток, которые так или иначе воспринимают эти сигналы, чтобы остановить рост только тогда, когда расстояние между этими частями достигнет надлежащей величины.

Регуляция роста такого типа поразительно проявляется во **вставочной регенерации**, которая происходит, когда отдельные части имагинального диска дрозофилы или растущей лапки таракана хирургически пересаживаются рядом друг с другом.

После пересадки клетки в окрестности соединения разрастаются и заполняют части структуры, которая в норме должна лежать между ними, и продолжают свой рост до тех пор, пока не будет восстановлен нормальный интервал между ориентирами (рис. 22.56). Механизмы, которые обуславливают это явление, представляются нам необъяснимой загадкой, но кажется весьма вероятным, что они подобны механизмам, которые регулируют рост при естественном ходе событий.

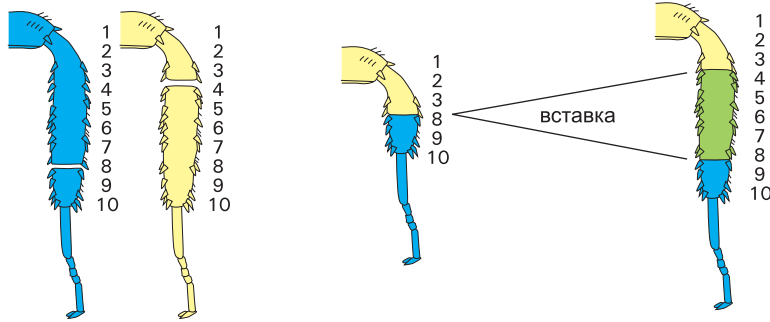


Рис. 22.56. Вставочная регенерация. Когда несоответствующие части растущей лапки таракана пересаживаются по соседству, новая ткань (окрашена зеленым) вставляется между ними (за счет разрастания клеток) и заполняет промежуток в расположении структур лапки, а тем самым восстанавливает сегмент лапки нормального размера и конфигурации.

Какой механизм мог бы гарантировать, что каждая маленькая часть структуры в пределах компартмента дорастет до своего надлежащего размера, несмотря на местные нарушения в скоростях роста или в начальных условиях? Градиенты морфогенов (например, Dpp и Wingless) создают структуру, определяя разные признаки клеток, стоящих в разных положениях. Возможно ли, что клетки в каждой области могут как-нибудь ощущать, сколь тесно пространство структуры, — сколь крут градиент изменения характера клеток, — и продолжать свой рост, пока ткань не увеличится до нужной степени?

Эту мысль проверили путем создания в диске крыла клонов клеток, в которых нижестоящие компоненты сигнального пути Dpp неправильно экспрессировались, чтобы осуществлять уровень активации пути выше или ниже, чем в соседних клетках. С точки зрения клеток условия на границе мутантного клона в этом случае эквивалентны условиям, возникающим при очень резком градиенте сигнала Dpp. В результате клетки в этой окрестности стимулируются к делению с увеличенной скоростью. Наоборот, если в средней области развивающегося диска крыла уровень сигнала Dpp сделать равномерным, тогда как в норме он был бы резким градиентом, деление клеток там затормозится. Кажется, что крутизна градиента действительно управляет скоростью разрастания. Но если это так, то как клетки ощущают крутизну градиента?

Ответ неизвестен, но есть явные указания на то, что данный механизм зависит от сигналов, вырабатываемых в местах межклеточных соединений, где клетки с разными уровнями активации пути образуют контакт. Как обсуждалось в главе 19, мутации в соединительных компонентах, таких как белок скэффолда Discs-large (Dlg) или член суперсемейства кадеринов белок Fat может вызвать резкий отказ системы управления ростом, позволяя диску крыла вырасти намного больше положенного ему размера. В случае с Fat в качестве компонентов сигнального

пути, который ведет от Fat в клеточной мембране к управлению экспрессией генов в ядре, идентифицирована группа других молекул, а в их числе и две протеинкиназы: Hippo и Warts. Продукты их генов-мишеней включают регулятор клеточного цикла циклин E и ингибитор апоптоза, а также микроРНК, *Bantam*, которая, по-видимому, является существенной частью механизма управления ростом. Несмотря на эти интригующие данные, механизмы, управляющие размерами органов, все еще остаются загадкой. Если мы сможем обнаружить, как они работают у дрозофилы, мы сможем получить некоторые представления об управлении размерами органов у позвоночных, в отношении которых наше недоумение по поводу этого фундаментального вопроса на сегодняшний день еще глубже³. Что до прочих сторон развития органов, которые мы как раз и собираемся обсудить, то мухи и позвоночные неожиданно похожи на молекулярном уровне, а это позволяет предположить, что их механизмы управления ростом тоже могут оказаться подобными.

22.5.8. У всех позвоночных построение плана конечностей осуществляется сходными механизмами

Конечности позвоночных по виду сильно отличаются от таковых у насекомых. Например, крыло насекомого состоит главным образом из двух сложно структурированных слоев эпителия с очень малым количеством ткани между ними. Напротив, конечность позвоночного состоит из замысловато структурированной системы мышц, костей и других соединительных тканей под слоем тонкого и обладающего намного более простой структурой эпидермального покрова. Более того, эволюционные данные позволяют предположить, что последний общий предок насекомых и позвоночных, возможно, не имел ни ног, ни рук, ни крыльев, ни плавников и что в ходе эволюции мы независимо развивали эти различные придатки. И все же, когда мы исследуем молекулярные механизмы, которые управляют развитием конечностей позвоночных, мы находим удивительное число сходств с конечностями насекомых. Мы уже упомянули некоторые из этих сходств, но есть и много других: почти все молекулы, которые мы уже наблюдали в крыле мухи, имеют свои аналоги в конечности позвоночного, хотя они экспрессируются в разных взаимных пространственных расположениях.

Параллели наиболее досконально изучены в зародыше курицы. Как мы видели ранее, нога или крыло курицы образуется из имеющей форму языка почки конечности, состоящей из массы клеток эмбриональной соединительной ткани, названных мезенхимными клетками, заключенных в рубашку из эпителия. В этой структуре обнаруживается экспрессия гомологов почти всех генов, которые мы упоминали в нашем описании конфигурирования крыла дрозофилы, включая гены *Distal-less*, *Wingless*, *Notch*, *Engrailed*, *Dpp* и *Hedgehog*, главным образом выполняющие функции, которые кажутся более или менее подобными их функциям в диске крыла дрозофилы (рис. 22.57).

Гены *Hox* аналогичным образом появляются в конечностях и насекомых, и позвоночных. В придатке насекомого передний и задний компартменты отличаются экспрессией разных генов из комплекса *Hox* — результат картины последовательной экспрессии этих генов по передне-задней оси тела в целом. В конечности позвоноч-

³ В настоящее время при помощи экспериментов на мышах установлены многие эволюционные аналоги внутриклеточных компонентов сигнального пути Hippo. По-видимому, роль, аналогичную Hippo, у млекопитающих играют две протеинкиназы Mst1 and Mst2, контролирующие размер некоторых органов и рост опухолей. Гены Mst1 and Mst2 отвечают за вырожденный набор функций, т.к. их одновременная инактивация у мышей приводит к гибели эмбрионов на ранней стадии развития. — Прим. ред.

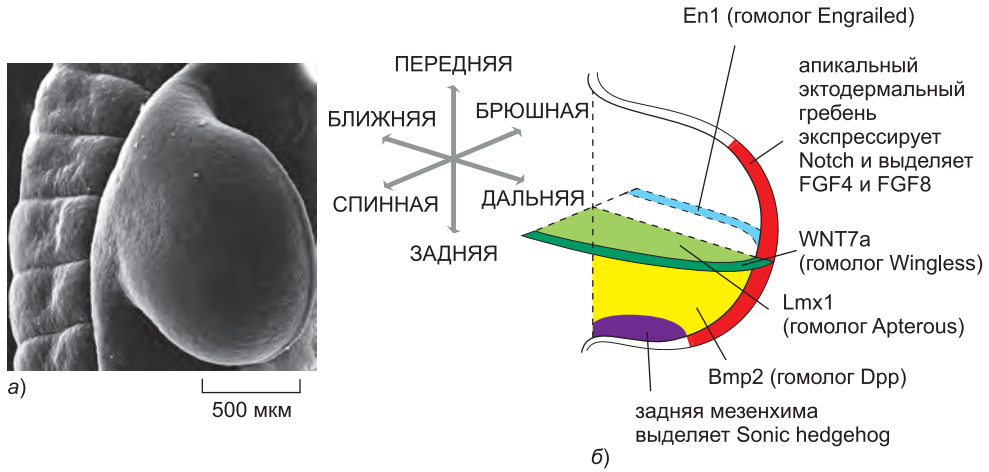


Рис. 22.57. Молекулы, ответственные за построения плана почки конечности позвоночного. а) Почка крыла зародыша курицы после 4-х дней инкубации. Растровый микроснимок сделан в дорсальной проекции, слева видны сомиты (сегменты нервного ствола зародыша). На дальнем краю зачатка крыла можно разглядеть только утолщенный гребень — апикальный эктодермальный гребень. б) Картины экспрессии ключевых сигнальных белков и регулирующих гены факторов в почке конечности курицы. Картины изображены схематично в двух воображаемых плоскостях сечения через зачаток конечности: одна (горизонтальная) показывает дорсо-вентральную систему, а другая (вертикальная) показывает передне-заднюю и ближне-дальнюю системы. В мезодермальной сердцевине почки конечности экспрессируются гены *Sonic hedgehog*, *Bmp2* и *Lmx1*; другие молекулы на схеме экспрессируются в ее эпителиальном покрове. Почти у всех показанных молекул есть гомологи, которые участвуют в структурировании диска крыла дрозофилы. (Изображение а любезно предоставлено Paul Martin.)

ного гены из пары комплексов Нох позвоночных (*НохА* и *НохD*) экспрессируются в виде регулярной картины, подчиняющейся обычным правилам последовательной экспрессии генов в этих комплексах (всего их, как помним, четыре). Они помогают, в сочетании с другими факторами, например, упоминавшимися ранее белками Тьх (см. рис. 22.9), регулировать различия поведения клеток по проксимально-дистальной оси конечности.

Согласно одному из возможных представлений, данные молекулярные подобию между развивающимися конечностями у животных разных типов отражают их происхождение от общего предка, который, хотя и не имел конечностей, обладал придатками некоторого вида, построенными на подобных принципах, — антеннами, возможно, или выдающимися наружу ротовыми частями для захватывания пищи. В таком случае современные подобные конечностям придатки, от крыльев и лапок мухи до рук и ног человека, могли эволюционировать за счет активации генов, служащих для формирования придатков, на новых участках тела в результате изменений в регуляции генов.

22.5.9. Локализованная экспрессия регулирующих гены белков определенных классов предшествует дифференцировке клеток

Теперь мы вновь продолжим разговор о развитии имагинального диска дрозофилы и дойдем до его заключительного шага, на котором клетки становятся окончательно дифференцированными. Далее сфокусируем наше внимание на диф-

ференцировки маленькой структуры одного только типа, которая появляется в эпителии имагинального диска: **сенсорный волосок (сенсилла)**.

Волоски (щетинки), покрывающие поверхность тела насекомого, суть миниатюрные органы чувств. Некоторые реагируют на химические раздражения, другие на механические раздражения, но все они построены одинаковым образом. В наиболее простой форме структура таких волосков просматривается в механочувствительных щетинках. Каждая из них состоит из четырех клеток: стержневой клетки, гнездовой клетки, шванновской клетки и нейрона (рис. 22.58). Движение стержня щетинки возбуждает нейрон, который посылает сигнал центральной нервной системе.

Клетки щетинки взрослой мухи возникают из эпителия имагинального диска, и все четыре из них — внучки или правнучки (см. рис. 22.58) отдельной *сенсорной материнской клетки*, которая обособляется от соседних предполагаемых эпидермальных клеток во время стадии личинки последнего возраста (рис. 22.59). (Пятый потомок умирает или, в некоторых тканях, становится глиальной клеткой.) Чтобы описать схему дифференцировки сенсиллы, нам нужно сперва объяснить, как осуществляется управление возникновением сенсорных материнских клеток, а затем — как пять потомков каждой такой клетки начинают отличаться друг от друга.

Определяюще важными в зачатии формирования щетинок в эпителии имагинального диска являются два гена, названные *Achaete* и *Scute*. Эти гены выполняют подобные и частично перекрывающиеся функции и кодируют близкородственные регуляторные белки относящиеся к классу транскрипционных факторов с основным доменом типа спираль—петля—спираль (обсуждается в главе 7). В результате работы конфигурирующих диск механизмов уже рассмотренного нами типа, гены *Achaete* и *Scute* экспрессируются в имагинальном диске в тех областях, в пределах которых сформируются щетинки. Мутации, которые устраняют экспрессию этих генов в некоторых из их обычных участков, блокируют развитие щетинок только на этих участках, а мутации, которые вызывают экспрессию в дополнительных, неправиль-

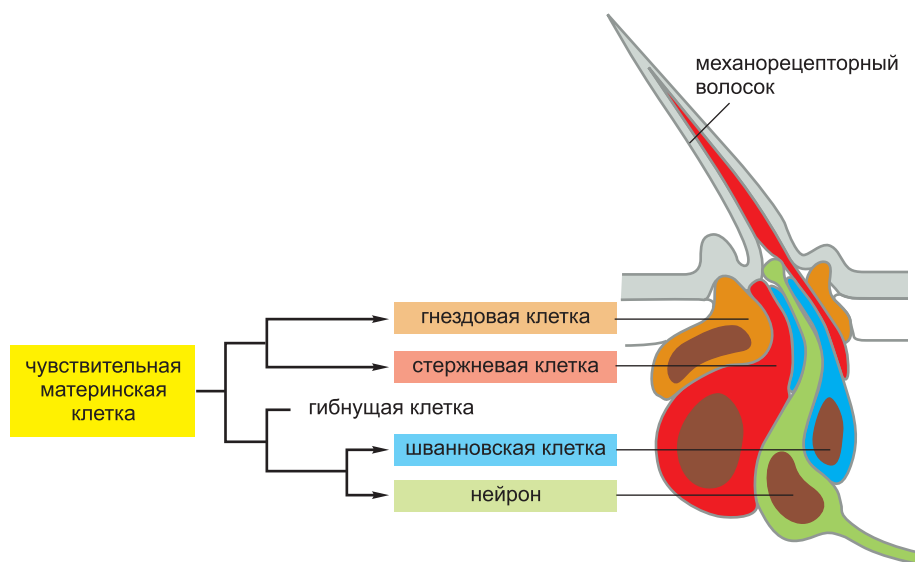
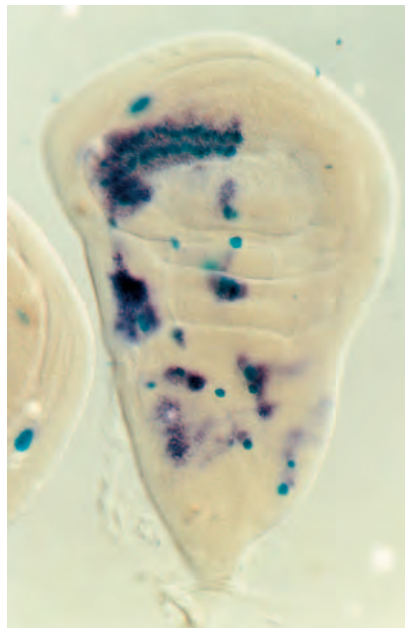


Рис. 22.58. Основная структура механорецепторной щетинки Слева показана клеточная линия из четырех образующих щетинку клеток — все они потомки одной сенсорной материнской клетки.

Рис. 22.59. Сенсорные материнские клетки в имагинальном диске крыла. Сенсорные материнские клетки (здесь обозначены *синим*) легко наблюдать в этой специальной линии дрозофилы, содержащей искусственный ген-репортер *LacZ*, который случайным образом попал в геном рядом с управляющей областью, побуждающей его экспрессироваться избирательно в сенсорных материнских клетках. *Фиолетовые* пятна показывают картину экспрессии гена *Scute*; он предшествует появлению сенсорных материнских клеток и исчезает, по мере того как они развиваются. (Займствовано из P. Cubas et al. *Genes Dev.* 5: 996–1008, 1991. С любезного разрешения издательства Cold Spring Harbor Laboratory Press.)



100 мкм

ных участках, обуславливают развитие на них волосков. Но экспрессия генов *Achaete* и *Scute* является временной, и только меньшинство клеток, первоначально экспрессировавших эти гены, становится сенсорными материнскими клетками; другие становятся обычным эпидермисом. Состояние, которое задается экспрессией генов *Achaete* и *Scute*, называют *пронейронным*, а сами гены *Achaete* и *Scute* называют **пронейральными генами**. Пронейральные клетки направляются на нейросенсорный путь дифференцировки, но, как мы увидим, кто из них фактически пойдет по нему, зависит от конкурентных взаимодействий между ними.

22.5.10. Латеральное ингибирование отбирает сенсорные материнские клетки из кластеров пронейральных клеток

Клетки, экспрессирующие пронейральные гены, расположены в эпителии имагинального диска группами — маленькая, обособленная группа из менее чем 30-ти клеток для большого обособленного волоска и широкая сплошная область из сотен или тысяч клеток для поля маленьких волосков. В первом случае только один член группы становится сенсорной материнской клеткой; во втором случае множество клеток, рассредоточенных по всей пронейральной области, делает это. В обоих случаях каждая сенсорная материнская клетка оказывается окруженной клетками, которые выключают экспрессию пронейральных генов и становятся, вместо этого коммитированными к дифференцировке в эпидермис. Эксперименты с генетическими мозаиками показывают, что это связано с тем, что клетка, которая направляется на путь дифференцировки в сенсорную материнскую клетку, посылает своим соседям сигнал не делать того же самого: она осуществляет *латеральное торможение*. Если клетка, которая в норме стала бы материнской сенсорной клеткой, генетически лишается такой возможности, то соседняя пронейронная клетка, освободившись от гнета латерального ингибирования, станет чувствительной материнской клеткой вместо нее.

Латеральное торможение опосредствуется сигнальным путем Notch. Первоначально все клетки группы экспрессируют и трансмембранный рецептор Notch и его трансмембранный лиганд Delta. Везде, где лиганд Delta активирует рецептор Notch, в экспрессирующую Notch клетку посылается тормозящий сигнал;

следовательно, все клетки в группе первоначально тормозят друг друга. Однако получение такого сигнала в данной клетке, как полагают, уменьшает не только стремление этой клетки специализироваться в сенсорную материнскую клетку, но также и снижает ее способность сопротивляться, посылая тормозящий сигнал Delta в ответ. Это создает состояние конкуренции, из которого в каждой

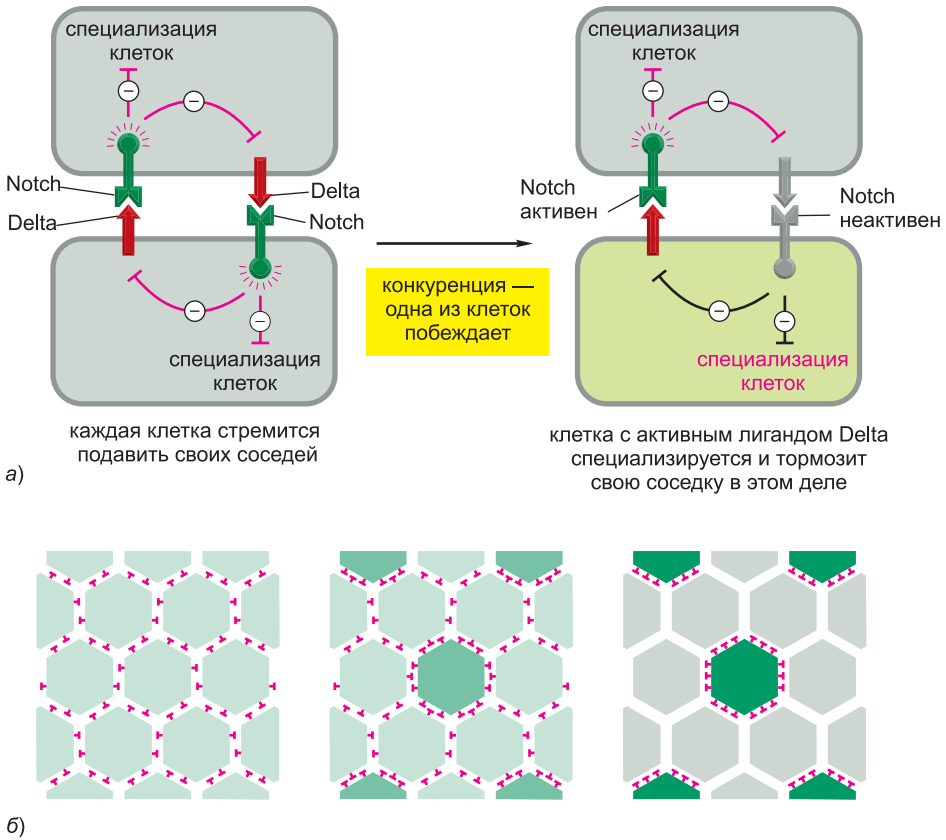
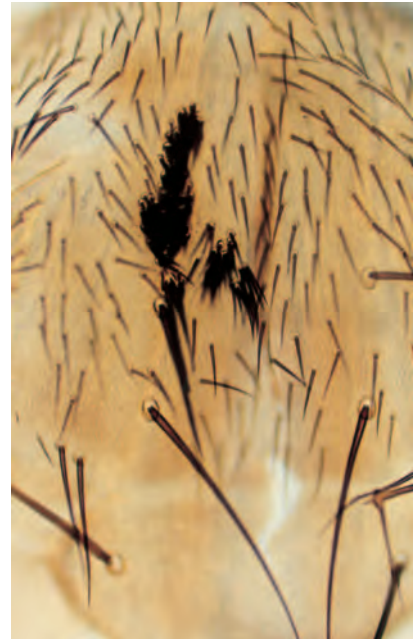


Рис. 22.60. Латеральное ингибирование. а) Основной механизм опосредствуемого белком Notch конкурентного латерального ингибирования, показанный на примере пары взаимодействующих клеток. На этой схеме отсутствие цвета на белках или на линиях эффектора означает их бездействие. б) Исход того же процесса, происходящего в более многочисленной группе клеток. Сначала все клетки в группе эквивалентны и экспрессируют и трансмембранный рецептор Notch, и его трансмембранный лиганд Delta. Все клетки стремятся специализироваться (как сенсорные материнские клетки) и каждая из них посылает тормозящий сигнал своим соседкам, дабы воспрепятствовать их специализации в том же направлении. В итоге возникает конкурентная ситуация. Как только отдельная клетка получает какое-либо преимущество в таком соревновании, это преимущество начинает усиливаться. Выигрывающая клетка, по мере того как она становится все более и более дифференцированной в сенсорную материнскую клетку, тормозит своих соседей все сильнее. И наоборот, по мере того как эти соседи теряют способность дифференцироваться в сенсорные материнские клетки, они теряют также и способность удерживать остальные клетки от этого шага. Таким образом, латеральное ингибирование побуждает соседние клетки стремиться к разным целям. Хотя такого рода взаимодействие, как считают, обычно (в норме) зависит от межклеточных контактов, будущая сенсорная материнская клетка может быть способна подавать тормозящий сигнал клеткам, расположенным в округе большего охвата, чем диаметр одной клетки, например, простирая длинные выросты (цитонемы), чтоб дотянуться до них.

Рис. 22.61. Результат выключения латерального ингибирования во время отделения сенсорных материнских клеток. На фотографии изображена часть груди мухи, содержащей мутантный участок ткани, в которой нейрогенный ген *Delta* частично инактивирован. Подавление латерального ингибирования заставило почти все клетки в мутантном участке (в центре картины) развиваться в сенсорные материнские клетки, что привело к большому избытку сенсорных волосков на этом участке. Участки, состоящие из клеток, несущих в пути Notch более сильные мутации, вызывающие полную потерю латерального ингибирования, не формируют видимых волосков, потому что все потомство сенсорных материнских клеток развивается в нейроны или в глиальные клетки, вместо разнонаправленной дифференцировки как в нейроны, так и во внешние части структуры волоска. (Снимок любезно предоставлен авторами статьи P. Heitzler and P. Simpson, *Cell* 64: 1083–1093, 1991. С великодушного разрешения издательства Elsevier.)



200 мкм

маленькой области лишь одна-единственная клетка — будущая сенсорная материнская клетка — выходит победителем и посылает сильный тормозящий сигнал своим ближайшим соседям, но уже не получает никакого такого сигнала в ответ (рис. 22.60). Последствия поломки такого регуляторного механизма представлены на рис. 22.61.

22.5.11. Латеральное ингибирование направляет потомство сенсорной материнской клетки к разным целям дифференцировки

В ходе формирования волосков многократно срабатывает один и тот же механизм латерального ингибирования, зависящий от пути Notch, — не только для того, чтобы вынудить соседей сенсорных материнских клеток следовать иным путем и стать эпидермальными, но также и для того, чтобы позже понуждать дочерей, внучек и, наконец, правнучек сенсорной материнской клетки экспрессировать различные гены, чтобы сформировать разные компоненты волоска. На каждом этапе латеральное ингибирование опосредствует конкурентное взаимодействие, которое вынуждает соседние клетки вести себя противодействующим образом. Используя чувствительную к температуре мутацию в пути Notch, возможно выключить сигнал Notch после того, как сенсорная материнская клетка выбрана, но прежде, чем она разделится. Тогда потомство будет дифференцироваться единообразно и даст группу нейронов вместо четырех разнородных клеток волоска.

Подобно многим другим соревнованиям, опосредствуемая латеральным ингибированием конкуренция часто оказывается нечестным: одна клетка начинает его с некоторым преимуществом, которое гарантирует ей победу. В случае развития клеток сенсорного волоска разных типов сильное начальное неравенство обеспечивается асимметрией при каждом из делений клеток сенсорной материнской клетки и ее потомков. Белок по имени Numb (вместе с некоторыми другими белками) сосредоточивается на одном конце делящейся клетки, так что одна дочь наследует этот белок Numb, а другая — нет (рис. 22.62). Белок Numb блокирует действие

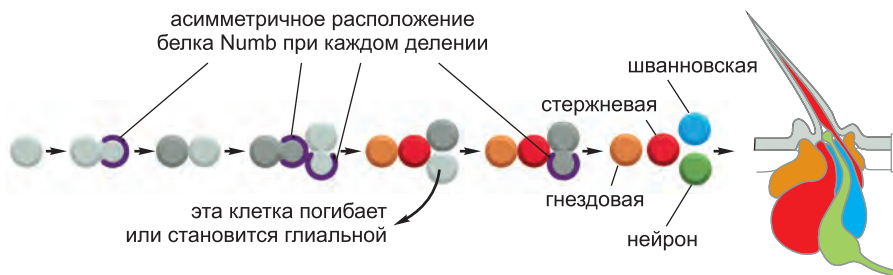


Рис. 22.62. Белок Numb влияет на латеральное ингибирование во время развития волоска. При каждом делении потомства сенсорной материнской клетки белок Numb сосредоточивается асимметрично, в силу чего дочерние клетки отличаются одна от другой. Обратите внимание, что некоторые из делений ориентированы таким образом, что митотическое веретено деления лежит в плоскости эпителия, другие — под прямым углом к нему; при делениях этих разных типов локализация белка Numb управляется разными способами, но в каждом из них оно играет ключевую роль, состоящую в предопределении пути дифференцировки клетки. (Схема построена на основании данных из M. Gho, Y. Bellaiche and F. Schweisguth, *Development* 126: 3573–3584, 1999. С любезного разрешения The Company of Biologists.)

белка Notch. Таким образом, содержащая белок Numb клетка глуха к тормозящим сигналам от своих соседей, тогда как ее сестра остается чувствительной к ним. Так как обе клетки первоначально экспрессируют лиганд Delta белка Notch, клетка, которая унаследовала белок Numb, идет по пути развития в нервную клетку, направляя свою сестринскую клетку по другому пути.

22.5.12. Плоскостная полярность асимметричных делений контролируется сигналом через Frizzled

Чтобы механизм Numb работал, в делящейся клетке должен быть некий механизм для перемещения детерминанта в одну сторону клетки до начала деления. Вдобавок к этому, когда клетка входит в митоз, митотическое веретено деления должно быть выровнено по этой асимметрии так, чтобы детерминант был только в одной дочерней клетке во время ее деления. В вышеупомянутом случае сенсорная материнская клетка, при ее первом делении, регулярно делится и дает переднюю клетку, которая наследует белок Numb, и заднюю клетку, которая его не получает. Как отмечено в главе 19, такого типа полярность в плоскости эпителия называют *плоскостной полярностью* (в противовес апико-базальной полярности, где клеточная асимметрия перпендикулярна плоскости эпителия). Она проявляется в единообразной ориентации смотрящих назад волосков, придающей мухе характерный внешний вид, словно они прилизаны ветром (**рис. 22.63**).

Плоскостная полярность при первоначальном делении сенсорной материнской клетки управляется сигнальным путем, подобным тому, что мы встречали в процессе управления асимметричными делениями у нематоды (см. рис. 22.21), и в данном случае он зависит от рецептора Frizzled. Белки Frizzled обсуждались ранее в главе 15 как рецепторы белков Wnt, но при управлении плоскостной полярностью — у мух и, вероятно, также и у позвоночных — этот путь работает особым образом: внутриклеточный переключающий механизм действует в основном на актиновый цитоскелет, а не на экспрессию генов. Внутриклеточный белок Dishevelled, нижестоящий по отношению к Frizzled, — общий для регулирующих генов и регулирующих ак-

Рис. 22.63. Плоскостная полярность клетки проявляется в полярности волоска на спине мухи: все волоски смотрят назад. (Растровый микроснимок любезно предоставлен S. Oldham и E. Hafen, взят он из E. Spana and N. Perrimon, *Trends Genet.* 15: 301–302, 1999. С любезного разрешения издательства Elsevier.)



300 мкм

тин вариантов пути передачи сигналов. Можно показать, что за эти две функции отвечают отдельные домены молекулы белка Dishevelled (**рис. 22.64**). Оба белка, и Frizzled и Dishevelled, берут свои названия от неопрятного, неряшливого вида мух, у которых полярность щетинок нарушена (см. **рис. 19.32**).

22.5.13. Асимметричное деление стволовых клеток генерирует дополнительные нейроны в центральной нервной системе

Описанные нами механизмы управления порождением нейронов сенсорных волосков работают, с разновидностями, также и в деле возникновения фактически всех остальных нейронов — не только у насекомых, но и у животных других типов. Таким образом, в центральной нервной системе зародыша как мух, так и позвоночных животных нейроны возникают из областей экспрессии пронеуральных генов, родственных генам *Achaete* и *Scute*. Новоявленные нейроны экспрессируют лиганд Delta и попутно удерживают своих непосредственных соседей, которые экспрессируют рецептор Notch, от дифференцировки в нейроны. Когда сигнал Notch блокирован, ингибирование не срабатывает и в пронеуральных областях нейроны возникают в огромном избытке за счет ненейральных клеток (**рис. 22.65**).

Однако в центральной нервной системе в игру входит дополнительный механизм, для того чтобы помогать производить необходимые огромные числа нейронов и глиальных клеток: клетки специального класса самоопределяются как нервные клетки-предшественники, но, вместо того чтобы дифференцироваться непосредственно в нейроны или глиальные клетки, они подвергаются длинному ряду асимметричных делений, в ходе которых к их популяции добавляется целая вереница дополнительных нейронов и глиальных клеток. Этот механизм лучше всего понят у дрозофилы, хотя многочисленные наблюдения свидетельствуют о том, что что-то подобное происходит также и в развитии нервных клеток у позвоночных.

В центральной нервной системе зародыша дрозофилы предшественники нервных клеток, или **нейробласты**, первоначально выделяются из нейрогенной эктодермы с помощью типичного механизма латерального ингибирования, который зависит от сигнального пути Notch. Затем каждый нейробласт многократно делится асимметричным образом (**рис. 22.66, a**). При каждом таком делении одна дочерняя клетка остается в облике нейробласта, тогда как вторая, намного меньшего размера, специализируется в **ганглиозную материнскую клетку** (*ganglion mother cell*, GMC). Ганглиозная материнская клетка делится только один раз, дав пару

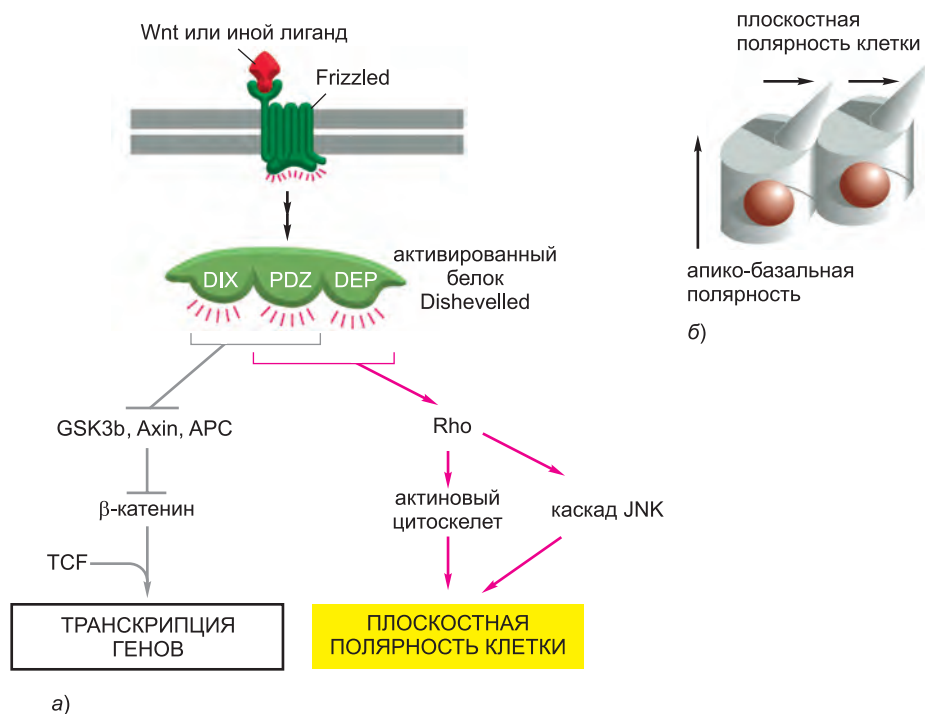


Рис. 22.64. Управление плоскостной полярности клетки. а) Две ветки сигнального пути Wnt/Frizzled. Главная ветвь, рассмотренная нами в главе 15, управляет экспрессией генов через β -катенин; ветвь плоскостной полярности управляет актиновым клеточным скелетом через GTPазы Rho. За эти два действия отвечают разные домены белка Dishevelled. Еще не совсем ясно, какой член семейства сигнальных белков Wnt, если они вообще участвуют в этом процессе, отвечает за активацию связанной с плоскостной полярностью функцией белка Frizzled у дрозофилы. б) Картинка клеток, показывающая плоскостную полярность. По крайней мере в некоторых системах плоскостная полярность клеток связана с асимметричной локализацией самого рецептора Frizzled, перетекающего во всех клетках на одну сторону (см. также главу 19, рис. 19.32).

нейронов, или нейрон и глиальную клетку, или же пару глиальных клеток. При каждом делении нейробласт становится меньше, так как он выделяет часть своего вещества в одну ганглиозную материнскую клетку за другой. В конечном счете, обычно приблизительно после 12-ти циклов, процесс останавливается, предположительно, по той причине, что нейробласт становится слишком маленьким, чтобы суметь пройти контрольную точку размера клетки для входа в митоз в цикле клеточного деления. Позже, в личинке, деление нейробластов возобновляется, но теперь оно сопровождается ростом клеток, благодаря чему данный процесс продолжается бесконечно и позволяет производить много больше числа нейронов и глиальных клеток, необходимые для взрослой мухи.

Следовательно, нейробласты личинки представляют собой **стволовые клетки**: в то время как сами они до конца не дифференцируются, они ведут себя как самовосстанавливающийся и потенциально неистощимый источник окончательно дифференцированных клеток. В главе 23, где мы обсуждаем стволовые клетки подробно, мы увидим, что стволовые клетки не обязательно должны делиться асимметрично, однако асимметричное деление — одна из возможных стратегий, и нейробласты мухи показывают нам прекрасный ее пример.

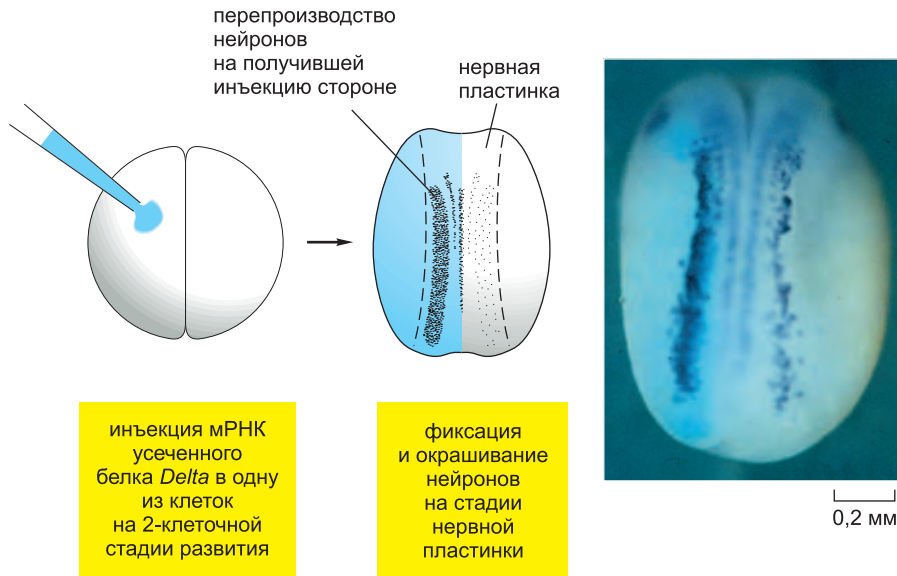


Рис. 22.65. Эффекты блокирования сигнального пути Notch в зародыше *Xenopus*. В представленном здесь эксперименте в одну из клеток зародыша на двухклеточной стадии развития вводится мРНК, кодирующая усеченную форму лиганда Delta белка Notch, вместе с мРНК гена *LacZ* в качестве маркера. Усеченный белок Delta, транслированный с этой мРНК, блокирует сигнальный путь Notch в клетках, спускающихся от клетки, которая получила инъекцию. Эти клетки лежат на левой стороне зародыша и опознаваемы, потому что попутно с усеченным белком Delta содержат белок LacZ (синяя окраска). Правая сторона зародыша не затронута и служит контрольным образцом. Эмбрион фиксируется и окрашивается на той стадии, когда центральная нервная система еще не свернулась и не сформировала нервную трубку, а все еще остается более или менее плоской клеточной пластинкой — нервной пластинкой, — выставленной на поверхности зародыша. Первые нейроны (на фотографии они окрашены фиолетовым) уже начали дифференцироваться в вытянутые полосы (пронейральные области), пролегающие по обе стороны от средней линии. На контрольной (правой) стороне они представляют собой рассредоточенную подгруппу популяции proneйральных клеток. На (левой) стороне с заблокированным сигналом Notch практически все клетки в proneйральных областях дифференцировались в нейроны, создав густо окрашенную полосу нейронов без вклинивающихся в нее чужеродных клеток. Инъекции мРНК, кодирующей нормальный, функционально активный лиганд Delta, оказывают противоположное действие, сокращая число клеток, которые дифференцируются в нейроны. (Фотография заимствована из A. Chitnis et al., *Nature* 375: 761–766, 1995. С любезного разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

22.5.14. Асимметричное деление нейробластов оставляет ингибитор клеточного деления только в одной из дочерних клеток

Деления нейробласта асимметричны в трех отношениях: 1) физическом, ибо одна дочерняя клетка меньше второй; 2) биохимическом в плане распределения факторов, управляющих дифференцировкой; и 3) биохимическом в плане распределения факторов, управляющих разрастанием. Если плоскость дробления должна разделить клетку на надлежащие части, то все эти асимметрии должны быть согласованы и между собой, и с ориентацией оси митотического веретена деления. Как же это достигается?

Нейробласт обладает апико-базальной асимметрией, отражающей его происхождение из эктодермы, которая, подобно прочим эпителиальным тканям, имеет четко обозначенную апико-базальную полярность. Как мы видели в главе 19, апико-

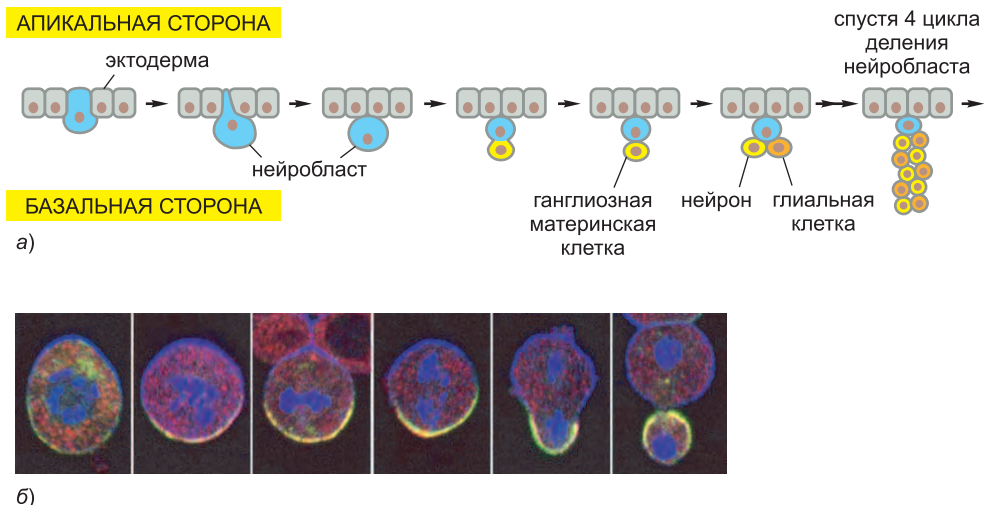


Рис. 22.66. Нейробласты и асимметричное деление клеток в центральной нервной системе зародыша мухи. *а)* Нейробласт возникает в виде специализированной клетки эктодермы. Он выделяется за счет латерального ингибирования и появляется из базальной (внутренней) поверхности эктодермы. После этого он проходит повторные циклы деления, делясь асимметрично и производя ряд ганглиозных материнских клеток. Каждая такая клетка делится только один раз и дает пару дифференцированных дочерей (как правило, нейрон и глиальную клетку). *б)* Асимметричное распределение детерминантов пути дифференцировки клетки в выделенном нейробласте, когда он проходит митоз. Митотические хромосомы окрашены *синим*. Комплекс Par3/Par6/aPKC, проявленный с помощью *синей* окраски с использованием иммунной метки для aPKC, сконцентрирован в апикальной коре, он заставляет белки Miranda (*зеленый*), Vrat (*красный*, а там, где белки Vrat и Miranda накладываются, — *желтый*) и Prospero (не окрашен) сосредоточиваться в базальной коре. Когда клетка делится, эти последние три молекулы отделяются в ганглиозную материнскую клетку, вынуждая ее дифференцироваться, а нейробласту давая возможность восстановить свою асимметрию и делиться снова таким же образом. (Изображение *б* заимствовано из С. Y. Lee et al., *Dev. Cell* 10: 441–449, 2006. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

базальная полярность управляется комплексом из трех белков — Par3 (называемый также Bazooka у дрозофилы), Par6 и aPKC (атипичная протеинкиназа C), — который локализуется в кортикальном слое клетки на ее апикальном конце. Этот локализованный комплекс Par3/Par6/aPKC, как предполагают, является первичным источником асимметрии нейробласта. Привлекая другие компоненты, некоторые из которых имеют механизм обратной связи и тем самым поддерживают локализацию комплекса, он координирует весь процесс неравного деления.

Комплекс Par3/Par6/aPKC определяет ориентацию митотического веретена деления и обуславливает неравное деление клетки в процессе цитокинеза за счет взаимодействия с адаптерными белками по имени Inscuteable и Partner of Inscuteable (Pins). Они, в свою очередь, рекрутируют α -субъединицу тримерного G-белка (рассмотренного нами в главе 15), которая в данном контексте выступает в роли внутриклеточного посредника, проводящего организацию клеточного скелета.

В то же время комплекс Par3/Par6/aPKC фосфорилирует регулятор внутриклеточной архитектуры, названный Lgl (Lethal giant larvae) и таким образом побуждает другой адаптерный белок, названный Miranda сконцентрироваться в кортикальном слое клетки на ее противоположном (базальном) конце (рис. 22.66, *б*).

Miranda связывает белки, которые управляют дифференцировкой и пролиферацией, сосредоточивая их в том же участке. Когда нейробласт делится, белок Miranda и белок, с которым он связан, остаются в ганглиозной материнской клетке. Одна из молекул, перенесенных таким образом в ганглиозную материнскую клетку, — регуляторный белок по имени Prospero, который управляет дифференцировкой клетки. Еще один — посттранскрипционный репрессор по имени Brat (Brain Tumor). Brat служит ингибитором пролиферации клеток, очевидно, предотвращая выработку активизирующего рост белка Мус, печально известного своей ролью в развитии рака (мы обсуждали его в главе 20). У мутантов с дефектным белком Brat, или там, где он не локализован надлежащим образом, меньшая дочерняя клетка — результат асимметричного деления нейробласта — часто не в состоянии дифференцироваться в ганглиозную материнскую клетку, а, вместо этого, растет и делится как нейробласт. В итоге образуется опухоль мозга — масса нейробластов, которая растет по экспоненциальному закону без ограничений, пока муха в конце концов не умирает.

Имеются ли в тканях позвоночных стволовые клетки, которые ведут себя подобно нейробластам мухи, — сегодня этот вопрос вызывает большой интерес, особенно в ракурсе проблем возникновения рака.

22.5.15. Сигнальный путь Notch регулирует тонкие детали распределения дифференцированных клеток в самых разных тканях

Каждая дочерняя клетка нормальной ганглиозной материнской клетки может стать или нейроном или глиальной клеткой. Этот заключительный выбор, подобно выбору пути дифференцировки клеток для потомства сенсорной материнской клетки в периферической нервной системе, управляется с помощью сигнального пути Notch и латерального ингибирования. Фактически опосредствуемое сигналом Notch латеральное ингибирование является определяюще важным для увеличения многообразия клеток и тонкой регуляции структуры в огромном разнообразии различных тканей. У мухи оно контролирует не только образование нейронов, но также и клеток многих других дифференцированных типов: например, в мышцах, в выстилке кишечного тракта, в выделительной системе, в трахеях, а также в глазу и других органах чувств. У позвоночных животных гомологи рецептора Notch и его лигандов экспрессируются в соответствующих тканях и имеют схожие функции: например, мутации в пути Notch нарушают баланс не только для нейронов и прочих клеток в центральной нервной системе, но также и клеток различных специализированных типов в выстилке кишечника, эндокринных и экзокринных клеток в поджелудочной железе, сенсорных и поддерживающих клеток в органах чувств типа уха.

Во всех этих тканях требуется сбалансированная смесь клеток различных типов. Сигнальный путь Notch обеспечивает средства получения такой смеси, позволяя отдельно взятым клеткам, экспрессирующим один набор генов, побуждать своих ближайших соседей экспрессировать другой набор генов.

22.5.16. Некоторые ключевые регуляторные гены определяют тип клетки, другие могут активизировать программу создания целого органа

Как мы упоминали в начале этой главы, существуют некоторые гены, продукты которых служат своего рода переключателями для развития определенного органа, запускающими и согласовывающими всю сложную программу экспрессии

генов, требующуюся для этой цели. Так, например, когда ген *Eyeless* искусственно экспрессируется в участке клеток в имагинальном диске ноги, в нем развивается участок хорошо организованной глазной ткани с правильным взаимным расположением всех ее клеток различных типов (см. рис. 22.2). Сходным образом, намного позже, когда клетка делает свой окончательный выбор того или иного способа дифференцировки в контексте взаимодействий, опосредованных сигналом Notch, она должна следовать сложной программе, предполагающей экспрессию большого набора генов, но эта программа дифференцировки запускается и контролируется намного меньшим набором регуляторов высокого уровня. Такие регуляторы иногда называют «главными регуляторными белками» (хотя даже они могут оказывать свое специфическое действие только в сочетании с правильными партнерами и только в клетке, которая соответствующим образом подготовлена).

Пример — семейство регуляторных белков MyoD/миогенин. Эти белки заставляют клетки дифференцироваться в мышечные, экспрессируя специфические для мышц актины и миозины, а также все остальные цитоскелетные, метаболические и мембранные белки, которые нужны мышечной клетке (см. рис. 7.75). Регуляторные белки, которые определяют конкретные типы клеток, часто принадлежат (так же как и MyoD и его родственники) к семейству транскрипционных факторов, основной домен типа спираль—петля—спираль и кодируемых генами, которые гомологичны, а в некоторых случаях явно идентичны пронейральному гену, которые мы уже упоминали. Зачастую их экспрессия управляется сигнальным путем Notch через хитросплетение петель обратной связи.

Терминальная дифференцировка клеток завершает наш обзор на тему того, как гены управляют созданием мухи. Во многом он был значительно упрощен. В каждом из описанных нами процессов развития участвует намного больше генов, чем мы упомянули. Петли обратной связи, альтернативные механизмы, работающие параллельно, генетическая избыточность и другие явления еще сильнее усложняют общую картину событий. Несмотря на все это, важнейший постулат генетики развития изумляет своей неожиданной простотой. За управление главными особенностями развития всех многоклеточных животных отвечает ограниченное число генов и механизмов, используемых многократно в разных обстоятельствах и комбинациях.

Далее мы обращаемся к важной стороне развития животных, которую мы до сих пор оставляли в тени: к перемещению клеток.

Заключение

Внешние органы взрослой мухи развиваются из эпителиальных структур, называемых имагинальными дисками. В самом начале каждый имагинальный диск, в результате процессов сегментации зародыша на ранних стадиях развития, делится на небольшое число областей, экспрессирующих разные регуляторные белки. Эти области называют компартментами, потому что клетки из разных областей не смешиваются друг с другом. На границах компартментов клетки, экспрессирующие разные гены, противостоят друг другу и взаимодействуют, вызывая локальный синтез морфогенов, которые управляют дальнейшим ростом и образованием внутренней структуры каждого такого компартмента. Так, в диске крыла дорсальные и вентральные клетки взаимодействуют с помощью сигнального механизма Notch и создают источник белка Wingless (Wnt) по дорсо-вентральной границе компартментов, тогда как передние и задние клетки взаимодействуют через сигнальный путь ближнего порядка Hedgehog

и создают источник белка Dpp (член семейства TGF β) по передне-задней границе компартментов. Все эти сигнальные молекулы имеют гомологов, которые играют схожие роли при развитии конечностей позвоночных.

Каждый компартмент имагинального диска и каждая субструктура внутри него растут до точно предсказуемого размера, даже вопреки серьезным нарушениям, таким как мутации, которые изменяют скорость деления клеток. Хотя нет сомнений, что в это дело вовлечены установившиеся в диске градиенты морфогенов, ключевые регуляторные механизмы, управляющие размером органа, еще не удалось объяснить.

В пределах каждого компартмента градиенты морфогенов управляют участками экспрессии следующих наборов генов, определяя группы клеток, которые опять же взаимодействуют друг с другом, чтобы создать тончайшие детали окончательной картины дифференцировки клеток. Так, экспрессия пронеуральных генов определяет участки, на которых образуются сенсорные волоски, а опосредствуемые сигнальным путем Notch взаимодействия среди клеток пронеуральной группы, наряду с асимметричными делениями клеток, вынуждают разные клетки одного волоска следовать разными путями заключительной дифференцировки. Подобным же образом в центральной нервной системе нейробласты выделяются из эктодермы путем латерального ингибирования, а затем проходят длинный ряд асимметричных делений в роли стволовых клеток и порождают нейроны и глиальные клетки. Сбои в асимметричном распределении молекул, которые управляют дифференцировкой и пролиферацией клеток, могут превратить нейробластные стволовые клетки в опухолевые клетки.

Есть основания полагать, что многие из этих же механизмов также работают и в тканях позвоночных.

22.6. Перемещения клеток и формирование тела позвоночного животного

Большинство клеток в теле животного обладает подвижностью, и в развивающемся зародыше их перемещения нередко характеризуются большой протяженностью, массовостью и поражающими воображение, абсолютно неожиданными последствиями. Путем управляемых изменений в картинах экспрессии генов создаются упорядоченные массивы клеток, находящихся в разных состояниях; в ходе перемещения клеток такие клеточные строительные блоки перестраиваются и помещаются в предписанные им места. Характер перемещения клеток определяют экспрессируемые в них гены; в этом смысле управление экспрессией генов есть первичное явление. Однако сами перемещения клеток тоже имеют крайне важное значение и должны быть объяснены, если мы хотим понять, как создается архитектура тела. В этом параграфе мы разберем этот вопрос в контексте развития позвоночного. В качестве главного примера мы возьмем лягушку *Xenopus laevis* (рис. 22.67), позволившую изучить перемещения клеток особенно хорошо, хотя будем привлекать также и данные о курице, рыбке данио рерио и мышши.

22.6.1. Полярность зародыша земноводного зависит от полярности яйца

Яйцо *Xenopus* представляет собой крупную клетку, чуть более миллиметра в диаметре (рис. 22.68, а). Светлоокрашенный нижний конец яйца называют веге-



Рис. 22.67. Краткая схема развития *Xenopus laevis* от недавно оплодотворенного яйца до самостоятельно питающегося головастика. На фотографии сверху представлена взрослая лягушка. Стадии развития показаны в боковой проекции, за исключением 10-часового и 19-часового зародышей, которые рассматриваются соответственно снизу и сверху. Все стадии, кроме взрослого животного, показаны в одном и том же масштабе. (Фотоснимок любезно предоставлен Jonathan Slack; рисунки набросаны на основе P. D. Nieuwkoop and J. Faber, Normal Table of *Xenopus laevis* [Daudin]. Amsterdam: North-Holland, 1956.)

тативным полюсом; темного цвета верхний конец называют анимальным⁴ полюсом. В анимальном и вегетативном полушариях содержатся разные наборы из молекул мРНК и иных компонентов клетки, которые при последующем делении яйцеклетки после оплодотворения будут распределены по разным клеткам. Например, около вегетативного полюса находится скопление молекул мРНК, кодирующей регуляторный белок VegT (ДНК-связывающий белок из семейства Т-бокс содержащих транскрипционных факторов), сигнальные белки из суперсемейства TGFβ, а также некоторые готовые к выполнению своей функции компоненты сигнального пути Wnt (рис. 22.68, б). В результате такой асимметрии клетки, унаследовавшие вегетативную цитоплазму, производят сигналы, организующие поведение соседних клеток: они настроены на формирование кишечника — самой внутренней ткани тела; клетки, которые унаследуют анимальную цитоплазму, сформируют наружные ткани. Таким образом, если не вдаваться в подробности, можно сказать, что анимально-вегетативная ось яйца соответствует измерению будущего организма в проекции снаружи-внутри (или кожа-кишечник).

Оплодотворение запускает ряд делений и перемещений клеток, после которого, вегетативные клетки и клетки экваториальной (срединной) области анимально-

⁴ «Вегетативный» (vegetal) и «анимальный» (animal) — традиционные эмбриологические термины, которые лишь обозначают полюса бластомера и не имеют отношения к растительному и животному царствам, как можно было бы подумать. — Прим. ред.

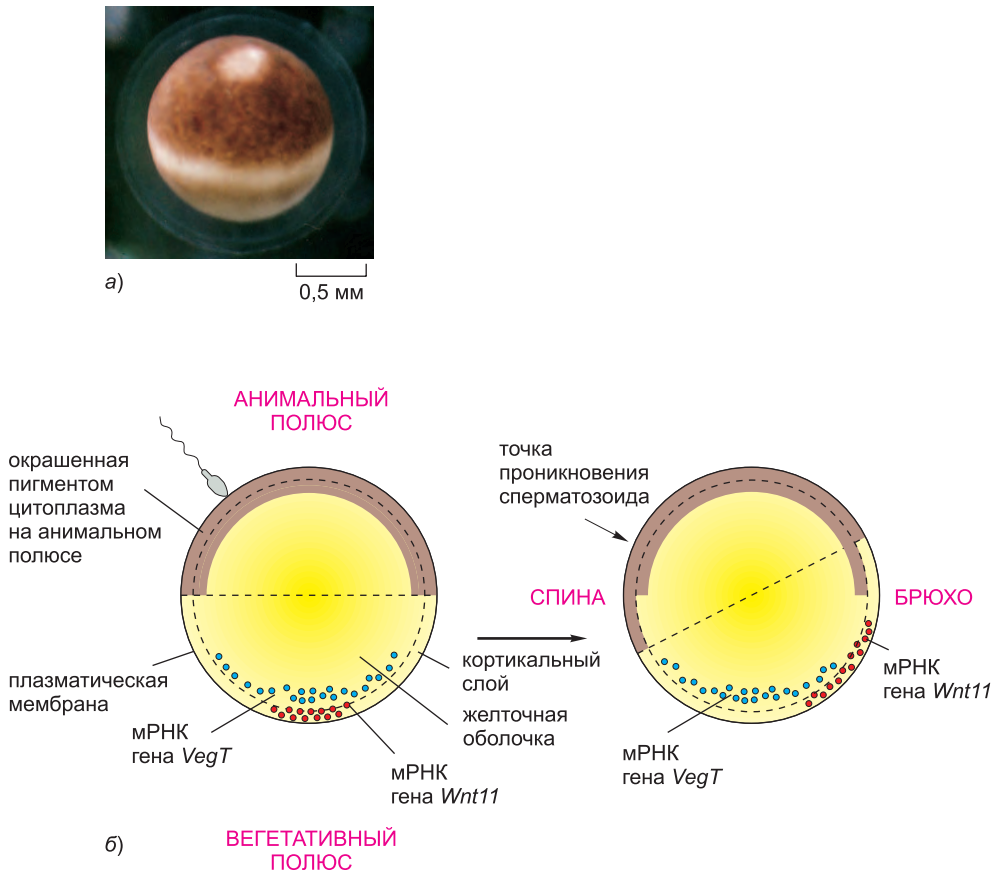


Рис. 22.68. Яйцо *Xenopus* и его асимметрии. а) Фотография яйца в боковой проекции, отснятая перед самым оплодотворением. б) Асимметричное распределение молекул в яйце и происходящие изменения оно после оплодотворения, в результате которых устанавливается дорсо-вентральная и анимально-вегетативная асимметрии. Оплодотворение с помощью реорганизации микротрубочек клеточного скелета вызывает поворот кортикального слоя яйца (глубиной в несколько мкм) примерно на 30° относительно его ядра в направлении, определяемом участком проникновения в него сперматозоида. Некоторые компоненты переносятся еще дальше к будущей дорсальной стороне посредством активного транспорта по микротрубочкам. Устанавливающаяся в дорсальной области концентрация мРНК гена *Wnt11* запускает там синтез сигнального белка *Wnt11* и обозначает дорсо-вентральную полярность будущего зародыша. (Фотоснимок а любезно предоставлен Tony Mills.)

вегетативной оси в конечном счете окажутся внутри зародыша. В ходе этих сложных перемещений закладываются три главные оси тела: *передне-задняя*, от головы к хвосту; *дорсо-вентральная*, от спины к животу; и *срединно-боковая*, от срединной линии наружу — влево и вправо. Ориентация этих осей определяется асимметриями зародыша на ранних стадиях его развития. Неоплодотворенное яйцо обладает только одной осью асимметрии — анимально-вегетативной, — но оплодотворение запускает события внутриклеточного перемещения, которые придают яйцу дополнительную асимметрию, определяющую вторую ось под прямым углом к этой первой оси. После проникновения сперматозоида в яйцо внешний, обогащенный актином

кортикальный слой цитоплазмы яйца поворачивается относительно его сердцевины, так что анимальный полюс кортикального слоя немного смещается в одну сторону. Различные методы обработки, блокирующие такой поворот, но допускающие обычное протекание дробления, приводят к получению зародыша, у которого имеется центральная кишка, однако полностью отсутствуют дорсальные структуры и не наблюдается никакой дорсо-вентральной асимметрии. Исходя из этого становится очевидным, что поворот кортикального слоя необходим для определения дорсо-вентральной оси будущего тела, и ось асимметрии, созданная в яйце за счет такого поворота, называется дорсо-вентральной осью яйца. Однако следует иметь в виду, что последующие перемещения клеток говорят о том, что истинные взаимосвязи между осями яйца и будущими осями тела гораздо сложнее, чем позволяет предположить эта терминология. Направление поворота кортикального слоя изменяется в зависимости от точки проникновения сперматозоида — возможно, посредством centrosомы, которую сперматозоид приносит в яйцо, а движение этого слоя сопряжено с реорганизацией микротрубочек в цитоплазме яйца. Наряду со смещением корковых слоев, осуществляется перенос (на основе транспорта по микротрубочкам) нескольких компонентов, а в их числе и молекул мРНК, кодирующей белок Wnt11 — член семейства сигнальных молекул Wnt, — к будущей дорсальной стороне (см. рис. 22.68, б). После доставки в дорсальную вегетативную область эта мРНК транслируется в белок Wnt11. В свою очередь, белок Wnt11, выделяемый формирующимися в той области клетками, критически важен для запуска каскада последующих событий, посредством которых будет организована дорсо-вентральная ось тела.

22.6.2. При дроблении получается много клеток из одной

Поворот кортикального слоя завершается приблизительно через час после оплодотворения и сопровождается дроблением, в ходе которого крупная одиночная яйцеклетка путем повторных митозов быстро подразделяется на большое число меньших клеток, или *бластомеров*, без какого-либо изменения общей массы (рис. 22.69). Таким образом химические детерминанты, распределенные в яйце асимметрично, последовательно и планомерно распределяются по отдельным клеткам с разными целями дифференцировки (рис. 22.70).

Протяженность цикла этих первых клеточных делений у *Xenopus* составляет приблизительно 30 минут, при этом для них характерно прямое чередование фаз S и M, как обсуждалось в главе 17. Очень высокая скорость репликации ДНК и митоза, по-видимому, не оставляет практически никакой возможности для транскрипции

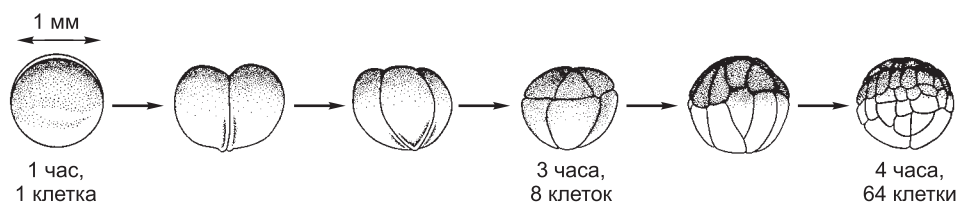


Рис. 22.69. Стадии дробления у *Xenopus*. За счет клеточных делений на стадии дробления яйцо быстро подразделяется на большое число клеток меньшего размера. В ходе первых 12-ти дроблений все клетки делятся синхронно, но сами эти деления асимметричны, так что отделяемые вниз вегетативные клетки, обремененные желтком, малочисленнее и крупнее верхних анимальных клеток.

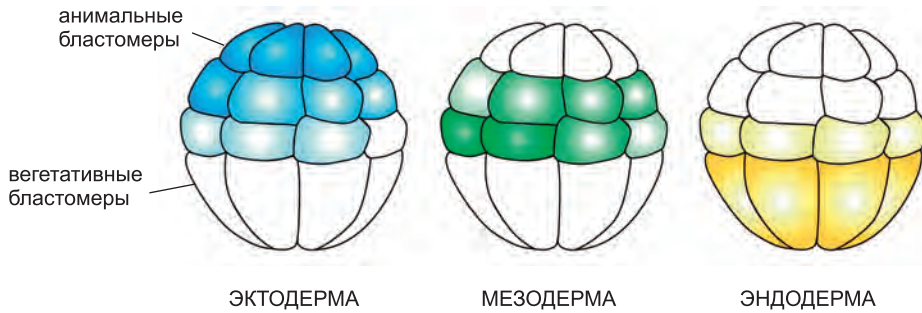


Рис. 22.70. Образование трех зародышевых листков можно проследить от самого выделения бластомеров зародыша на ранних стадиях его дробления. Эндодерма возникает из наиболее вегетативных бластомеров, эктодерма — из самых анимальных, а мезодерма — из средней их группы, которая участвует также и в формировании эндодермы с эктодермой. Чем интенсивнее окраска на каждом изображении, тем выше доля потомства клеток, из которых сформируется данный зародышевый листок. (Переработано на основе L. Dale, *Curr. Biol.* 9: R812–R815, 1999. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

генов (хотя синтез белка происходит), и дробящийся зародыш почти полностью зависит от запасов РНК, белка, мембранных и других материалов, которые накопились в яйце за время его развития в виде ооцита в организме матери. Примерно после 12-ти циклов дробления (7 часов) скорость деления клеток замедляется, клеточные циклы начинают следовать стандартной схеме, когда между фазами S и M вклиниваются фазы G_1 и G_2 , и начинается всеохватывающая транскрипция генома зародыша. Это событие называют *переходом к средней бластуле*, и его хронология в общих чертах схожа у животных большинства видов (за исключением млекопитающих). Исследования на данио рерио показывают, что в число новосинтезируемых транскриптов входят молекулы микроРНК, которые узнают многие из транскриптов, транспортированных в яйцо матерью, и управляют их быстрой деградацией. Таким образом, переход к средней бластуле отмечает переломный момент развития, в который большую часть полномочий по управлению развитием берет на себя собственный геном зародыша.

22.6.3. Гастрюляция преобразует полый шар клеток в трехслойную структуру с примитивным кишечником

На протяжении периода дробления зародыш лягушки постепенно преобразуется из сплошного клеточного шара в нечто более походящее на полый шар, изнутри заполненный жидкостью, а снаружи окруженный клетками, которые плотно стянуты между собой и образуют эпителиальный слой. В таком виде зародыш называют **бластулой** (рис. 22.71).

Вскоре после этого начинаются присущие гастрюляции взаимно согласованные перемещения клеток. В ходе этого потрясающего воображение процесса простой полый клеточный шар преобразуется в многослойную структуру, располагающую центральной кишечной трубкой и обладающую двусторонней симметрией: в соответствии с более сложным сценарием, чем тот, что был описан ранее для морского ежа (см. рис. 22.3), многие из клеток зародыша перемещаются с внешней его стороны внутрь. Последующее развитие зависит от взаимодействий между сформированными таким образом внутренним, наружным и срединным слоями клеток: с внутренней стороны —

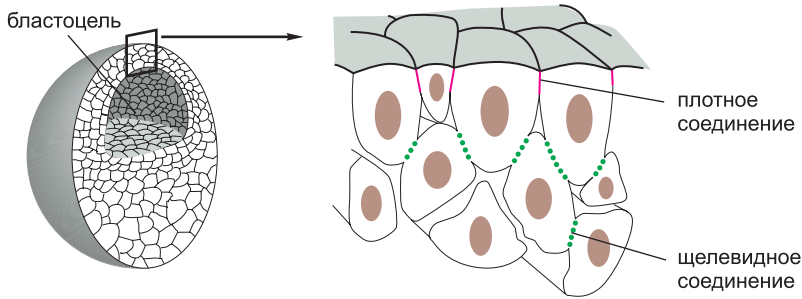


Рис. 22.71. Бластула. Из наружного слоя зародыша за счет плотных соединений между бластомерами начинает формироваться эпителиальный слой, ограждающий его внутреннюю часть от внешней среды. Сквозь этот слой во внутреннее пространство зародыша перекачиваются ионы Na^+ , а из-за устанавливающегося градиента осмотического давления в образующиеся полости за ними следует вода. В результате межклеточные прозоры внутри зародыша увеличиваются и сливаются в единственную полость — бластоцель (полость дробления). У *Xenopus* стенка бластоцеля имеет несколько клеток в толщину, и только самые внешние клетки плотно стянуты в эпителий.

эндодерма, состоящая из клеток, которые переместились внутрь, чтобы сформировать примитивную кишку; с наружной стороны — *эктодерма* (клетки остались снаружи); между ними — *мезодерма* (клетки отделились от эпителия с целью сформировать более рыхлую зародышевую соединительную ткань) (рис. 22.72). Из этих трех зародышевых листков строятся ткани организма взрослого позвоночного, при этом общие контуры тела, намечившиеся в ходе гастрюляции, сохраняются.

22.6.4. Перемещения клеток при гастрюляции точно предсказуемы

Схема происходящих при гастрюляции клеточных перемещений, за счет которых создаются зародышевые листки и закладываются оси тела, описана для *Xenopus* на рис. 22.73. Детали ее сложны, но принципы просты.

Клетки будущей эндодермы подворачиваются внутрь, или *подвергаются инволюции*, одна за другой. Процесс начинается с нисходящего от анимального полушария перемещения клеток, покрывающих и охватывающих желточное вегетативное полушарие — средоточие продовольственных запасов зародыша. Клетки, находящиеся в авангарде этого движения на вегетативном рубеже наступающего слоя клеток, первыми заползают внутрь — подворачиваются целым пластом, а затем продвигаются вверх к анимальному полюсу, где образуют наиболее переднюю часть кишечника. Когда эти первопроходцы приближаются к анимальному полюсу, они, будучи уже передовыми эндодермальными клетками, посылают вышележащей эктодерме сигнал о закладке передней оконечности головы. В конечном счете развивается рот — отверстие, образующееся на переднем участке тела, где эндодерма упирается изнутри в эктодерму и сливается с ней в круговой просвет. Тем временем будущие клетки мезодермы, предназначенные к отделению от эпителиального слоя и формированию межслойного наполнителя между эндодермой и эктодермой, втягиваются внутрь наряду с клетками эндодермы и тоже продвигаются вверх к анимальному полюсу. Клетки, которые заворачиваются первыми, идут на образование частей головы, а те, что подгибаются последними, формируют части хвоста. Таким образом последовательно закладывается передне-задняя ось сформировавшегося зародыша.

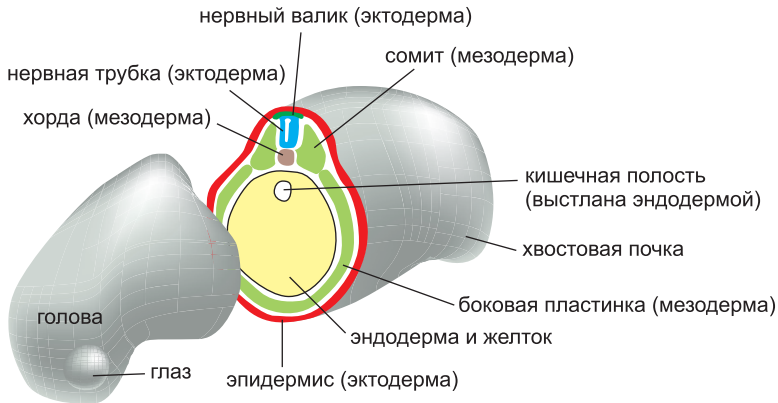


Рис. 22.72. Поперечный срез через тело зародыша земноводного после завершения гаструляции; видно взаимное расположение эндо-, мезо- и эктодермальной тканей. Эндодерма идет на образование эпителиальной выстилки кишечника, ото рта до анального отверстия. Она дает начало не только глотке, пищеводу, желудку и кишечнику, но также и многим открывающимся в него железам. Например, слюнные железы, печень, поджелудочная железа, трахея и легкие единообразно развиваются из выпячиваний стенки первоначально простого пищеварительного тракта и вырастают в сложные системы ветвящихся трубок, канальцев и протоков, открывающихся в кишку или глотку. Из эндодермы формируются только эпителиальные компоненты этих структур, например выстилка кишечника и секреторные клетки поджелудочной железы. Опорные, мышечные и волокнистые элементы происходят от мезодермы. Мезодерма дает начало соединительным тканям — сначала рыхлой, заполняющей пространство трехмерной сети клеток в зародыше, известной под названием мезенхимы, а в конечном счете хрящевой, костной и волокнистой соединительной тканям, включая сюда и дерму (нижний слой кожи). Мезодерма формирует также мышцы, всю сердечно-сосудистую систему, включая сердце, кровеносные сосуды и клетки крови, а также канальцы, протоки и опорные ткани почек и половых желез. Из эктодермы строится эпидермис (внешний эпителиальный слой кожи) и такие его производные, как волосы, потовые железы, молочные железы и т. п. Наряду с этим, она даст начало всей нервной системе, центральной и периферической, включая не только нейроны и глию, но также и сенсорные клетки носа, уха, глаза и других органов чувств. (Переработано на основе T. Mohun et al., *Cell* 22: 9–15, 1980. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

Перемещения по передне-задней оси идут рука об руку с перемещениями, за счет которых устанавливается дорсо-вентральная ось тела. Гаструляция начинается на той стороне бластулы, которая поворотом кортикального слоя оказалась помечена как дорсальная. Здесь заворачивание клеток внутрь начинается с короткого вдавливания, которое быстро распространяется и образует *бластопор* — линию впячивания, которая постепенно загибается в кольцо и охватывает вегетативный полюс. Участок, с которого начинается впячивание, определяет *дорсальную губу бластопора*. Как мы увидим, эта ткань играет ведущую роль в последующих событиях и дает начало центральным дорсальным структурам главной оси тела.

22.6.5. Механические процессы запускаются химическими сигналами

Молекулы мРНК генов *VegT*, *Wnt11* и других генов, сосредоточенные в вегетативной цитоплазме яйца, управляют локальным распределением своих белковых продуктов. Они работают в клетках в нижней и срединной частях зародыша, придавая им специализированные характеристики и приводя их в движение — как прямыми воздействиями, так и стимулируя производство других секретируемых сигнальных

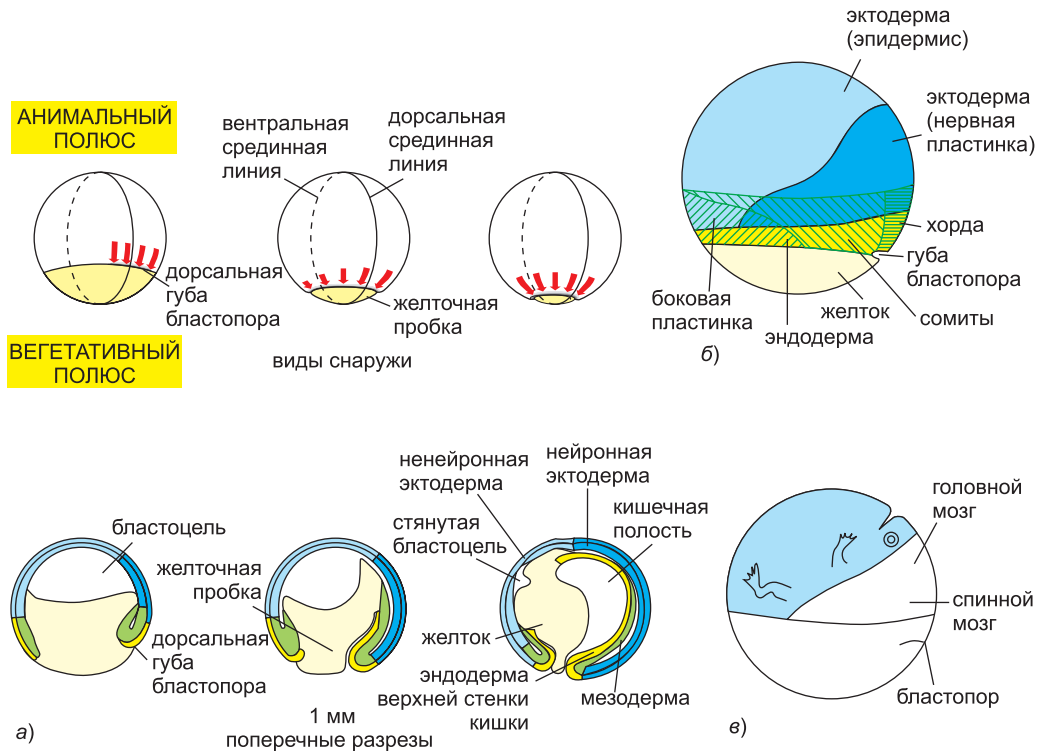


Рис. 22.73. Гастрюляция у *Xenopus*. а) На внешнем виде (сверху) зародыш, наблюдаемый со стороны спины, выглядит как полупрозрачный объект; направления клеточных перемещений обозначены красными стрелками, поперечные срезы (внизу) сделаны в срединной плоскости (плоскость спинной и брюшной срединных линий). Когда начинается гастрюляция, на поверхности бластулы становится заметным короткое вдавливание — начало бластопора. Это вдавливание постепенно удлиняется, загибается дугой и образует полное кольцо, окружающее пробку из очень богатых желтком клеток (предназначенную для последующего охвата кишки и переваривания). Тем временем слои клеток завертываются внутрь, огибая губу бластопора, и перемещаются в самую глубину зародыша. В то же время наружный эпителий в области анимального полюса активно расширяется, чтобы занять место тех слоев клеток, что завернулись внутрь. В конечном счете эпителий анимального полушария распространяется и покрывает всю наружную поверхность зародыша, а когда гастрюляция подходит к концу, круг бластопора сжимается почти в точку. б) Карта зачатков у зародыша *Xenopus* на ранних стадиях развития, когда он только начинает гастрюляцию (сделанная в боковой проекции), показывает истоки происхождения клеток, которые в свое время в ходе свойственных гастрюляции перемещений сформируют три зародышевых листка. Различные части мезодермы (боковая пластинка, сомиты и хорда) происходят от глубоко залегающих клеток, выделяющихся из эпителия в заштрихованной области. Другие клетки, включая более поверхностные клетки в заштрихованной области, дадут начало эктодерме (синяя, сверху) или эндодерме (желтая, снизу). Грубо говоря, клетки, которые заворачиваются, или впячиваются, внутрь первыми, продвигаются внутри зародыша вперед и формируют наиболее передние эндодермальные и мезодермальные структуры, тогда как заворачивающиеся внутрь последними формируют наиболее задние структуры. в) Рисунок (который не следует понимать слишком буквально), упрощенно показывающий, как различные области эктодермы отображаются (накладываются) на поверхность тела взрослого животного. (Переработано на основе R. E. Keller, *J. Exp. Zool.* 216: 81–101, 1981, с любезного разрешения издательства John Wiley & Sons, и *Dev. Biol.* 42: 222–241, 1975, с любезного разрешения издательства Academic Press.)

молекул (в частности, белков из суперсемейства TGFβ). Если эти последние сигналы блокированы, то не образуется никаких мезодермальных клеток, и гастрюляция нарушается. Местная активация сигнального пути Wnt на дорсальной стороне зародыша (в результате предшествующего поворота кортикального слоя; см. рис. 22.68) видоизменяет действие других сигналов и обуславливает тем самым развитие специальных клеток, формирующих дорсальную губу бластопора (рис. 22.74).

Дорсальная губа бластопора занимает в процессе гастрюляции центральное место не только как геометрический объект, но и как новый мощный управляющий центр. Если из зародыша в начале гастрюляции вырезать дорсальную губу бластопора и пересадить ее на другой зародыш, но в ином месте, то зародыш-реципиент начнет гастрюляцию и на участке своей собственной дорсальной губы, и на участке

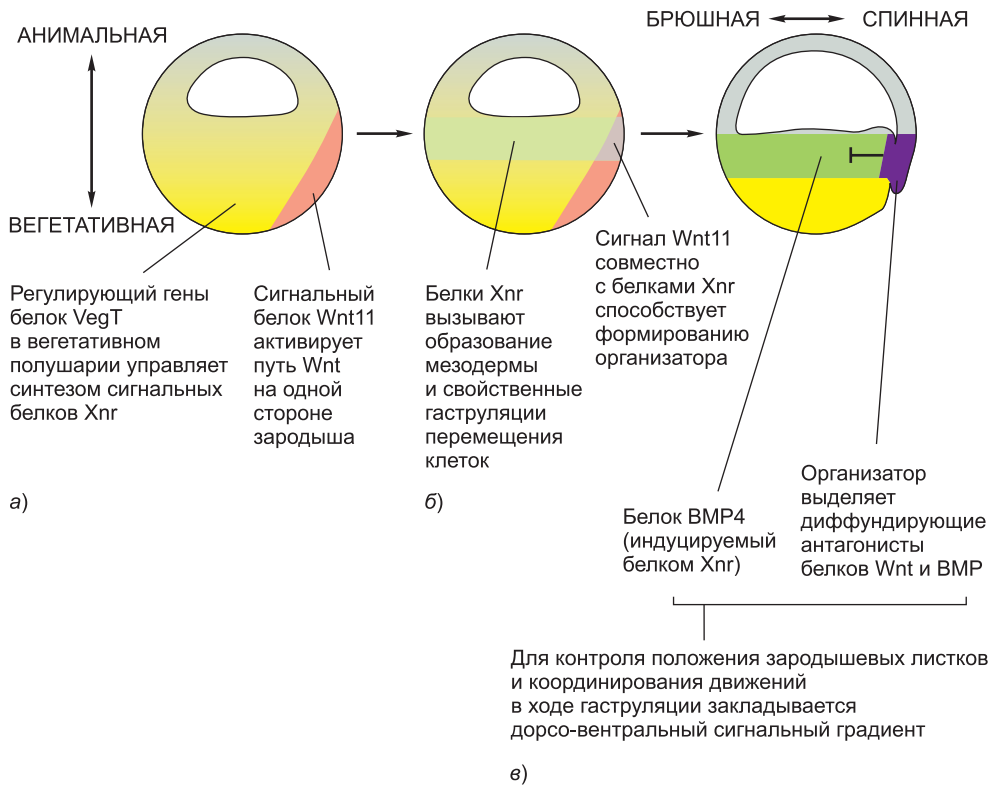


Рис. 22.74. Современное представление о главных индуктивных сигналах, организующих события гастрюляции. а) Распределение определяющих ось молекул в бластуле происходит из наследования разных частей цитоплазмы оплодотворенного яйца лягушки. Регуляторный белок VegT в вегетативных бластомерах транскрибируется с мРНК гена *VegT*, которая сосредоточена на вегетативном полюсе до оплодотворения. Белок Wnt11 на будущей дорсальной стороне транскрибируется с мРНК, сосредоточенной там в результате следующего за оплодотворением поворота кортикального слоя. б) Белок VegT управляет экспрессией белков Xnr (*Xenopus nodal-related*) и других членов суперсемейства TGFβ, которые запускают формирование полосы мезодермы в срединной части зародыша, тогда как белок Wnt11 видоизменяет исход всего действия на дорсальной стороне, действуя вместе с белком Xnr и вызывая образование организатора. в) Градиент морфогена, организующий дорсо-вентральную ось, устанавливается сочетанием сигналов, — включая BMP4 (еще один член суперсемейства TGFβ), — выделяемых мезодермой, и антагонистов путей Wnt и BMP, выделяемых клетками организатора в дорсальной губе бластопора.

трансплантата. Свойственные гастрюляции перемещения на втором участке влекут за собой формирование второго полного набора структур тела, и в итоге получается двойной зародыш (сиамские близнецы) (см. рис. 22.6, б).

Вполне очевидно, что дорсальная губа бластопора является источником сигнала (или сигналов), согласующего(-щих) и перемещения в ходе гастрюляции, и схему специализации тканей в его окрестности. Ввиду столь значимой роли в организации формирования главной оси тела дорсальную губу бластопора называли **организатором** (а также в честь его сооткрывателя — организационным центром Шпеманна). Это старейший и известнейший пример *зародышевого сигнального центра*.

22.6.6. Движущая сила гастрюляции обусловлена активными изменениями в упаковке клеток

Организатор управляет схемой дифференцировки клеток по дорсо-вентральной оси в своей окрестности, выделяя по крайней мере шесть разных сигнальных белков. Последние служат диффундирующими антагонистами сигналов двух главных типов (которые мы уже упоминали), выделяемых более вегетативными клетками, то есть сигналов Wnt и сигналов, подобных членам семейства TGF β (а точнее, по большей части белков BMP). Эти ингибиторы, выделяемых организатором, могут поспособствовать ограничению размера организатора, не давая соседним клеткам также принимать характер организатора. В то же время они создают градиент сигнальной активности — градиент морфогена, локальное значение которого отражает расстояние от организатора (рис. 22.74, в). Когда клетки перемещаются во время гастрюляции, они испытывают действие разных доз сигналов BMP (и прочих), приходящих в разные моменты и вызывающих разные варианты поведения клеток, приводящие их к разным конечным целям дифференцировки. Но как схема перемещений клеток организована в механическом отношении и каковы ее движущие силы?

Гастрюляция начинается с изменений формы клеток, находящихся на участке бластопора. У земноводных их называют бутылковидными клетками: они имеют широкие тела и узкие шейки, которыми закрепляются на поверхности эпителия (рис. 22.75). Они могут способствовать выгибанию эпителия и подворачиванию его внутрь, за счет чего образуется начальное вдавливание, видимое снаружи. Как только эта первоначальная складка сформируется, клетки могут продолжить свое продвижение внутрь в виде слоя, из которого сформируется кишка и мезодерма. Такое перемещение, кажется, происходит в основном за счет активной переупаковки клеток, особенно тех, которые находятся в сворачивающихся областях вокруг организатора (см. рис. 22.75). Здесь происходит **конвергентное растяжение**. Маленькие квадратные фрагменты ткани из этих областей, выделенные в культуре, самопроизвольно сужаются и удлиняются за счет перестановки клеток — точно так же как они это делают в зародыше в процессе схождения к дорсальной срединной линии, подворачиваясь внутрь вокруг губы бластопора, а затем удлиняясь и образуя главную ось тела.

Чтобы осуществить это замечательное преобразование, отдельные клетки должны напозать друг на друга согласованным образом (рис. 22.76). Согласование их движений, по-видимому, зависит от тех же механизмов, что и те, которые мы встречали у червя и мухи, а именно от управляющего плоскостной полярностью клетки поляризующего сигнального пути Frizzled/Dishevelled. Когда этот путь блокируется, — скажем, доминантно-негативной формой белка Dishevelled, — конвергентное растяжение становится невозможным.

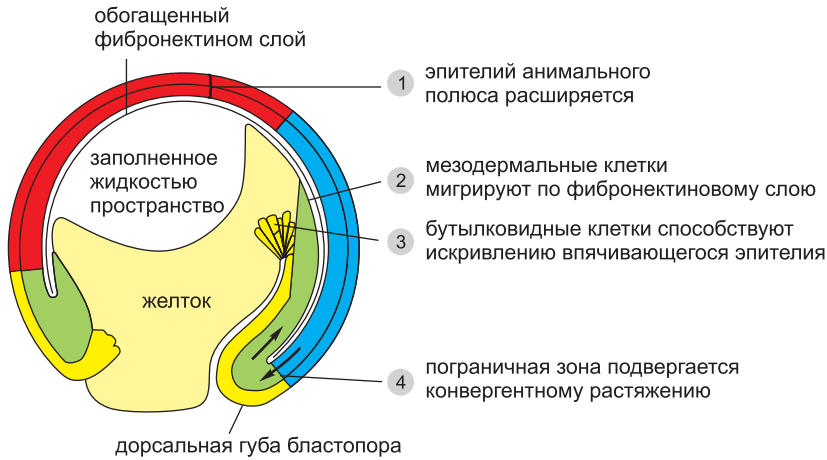


Рис. 22.75. Перемещения клеток во время гастрюляции. На срезе гастрюлирующего зародыша *Xenopus*, сделанном в той же плоскости, что и на рис. 22.73, показаны движения четырех главных типов, участвующих в гастрюляции. Эпителий животного полюса расширяется за счет изменения формы клеток, становясь по мере своего распространения все более и более тонким. Перемещение мезодермальных клеток по богатому фибронектином матриксу, выстилающему свод бластоцёла, похоже, помогает подтягивать впячивающиеся ткани вперед. Главной движущей силой гастрюляции у *Xenopus* является конвергентное растяжение в пограничной зоне. (Переработано на основе R. E. Keller, *J. Exp. Zool.* 216: 81–101, 1981. С любезного разрешения издательства Wiley-Liss.)

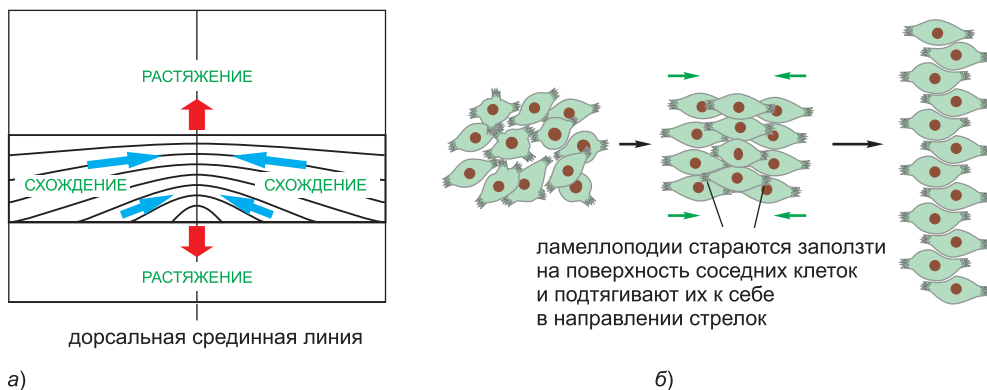


Рис. 22.76. Конвергентное растяжение и его клеточная основа. а) Схема конвергентного растяжения в пограничной зоне гастрюлы (вид сверху). Синие стрелки представляют схождение к дорсальной срединной линии, красные стрелки представляют растяжение передне-задней оси. Эта упрощенная схема не стремится показать сопряженное с этим движение подворачивания, при помощи которого клетки попадают внутрь зародыша. б) Схематическая диаграмма поведения клеток, лежащего в основе конвергентного растяжения. Клетки образуют ламеллоподии, которыми они пытаются наползти друг на друга. Выравнивание движений ламеллоподий по общей оси приводит к конвергентному растяжению. Данный процесс зависит от поляризирующего сигнального пути Frizzled/Dishevelled и, вероятно, кооперативен по своей природе, потому что клетки, которые уже выстроились, проявляют силы, стремящиеся выстроить своих соседей в том же порядке. (Изображение б переработано на основе J. Shih and R. Keller, *Development* 116: 901–914, 1992. С любезного разрешения The Company of Biologists.)

22.6.7. Изменение картины экспрессии молекул клеточной адгезии заставляет клетки принимать новые варианты взаимного расположения

Картины экспрессии генов обуславливают перемещения клеток зародыша многими разными способами. От них зависит подвижность клеток, их форма и выработка путеводных сигналов. Что очень важно, они определяют также и наборы адгезионных молекул, которые клетки выставляют на своих поверхностях. Через изменения набора своих поверхностных молекул клетка может разрывать старые связи и устанавливать новые контакты. Клетки какой-либо одной области могут приобрести такие свойства своих поверхностей, которые сплотят их между собой и заставят отделиться от соседней группы клеток, имеющих другую «химию поверхности».

Проведенные полстолетия назад эксперименты с зародышами земноводных на ранних стадиях развития показали, что эффекты избирательной межклеточной адгезии бывают настолько мощны, что могут вызвать почти точное восстановление нормальной структуры молодого постгастрюляционного зародыша даже после искусственного разобщения его клеток. Когда эти клетки повторно соединяют, они, будучи сначала хаотической смесью, самопроизвольно сортируются в соответствии со своими исходными свойствами (рис. 22.77). Как обсуждалось в главе 19, основную роль в этом играют кадгеринины — многочисленное и многоликое семейство эволюционно родственных белков межклеточной адгезии, зависимых от ионов Ca^{2+} . Эти

и другие молекулы межклеточной адгезии дифференцированно экспрессируются в разных тканях молодого зародыша, и антитела к ним препятствуют естественной избирательной адгезии между клетками одного типа.

Изменения в картинах экспрессии разных кадгеринов показывают хорошее взаимное соответствие с изменениями в картинах объединения клеток во время гастрюляции, нейруляции и формирования сомитов (см. рис. 19.25). Исходя из этого представляется весьма вероятным, что такие перестройки в отношении регуляции и отчасти в плане движущих сил зависят от картины распределения кадгеринов. В частности, кадгеринины, судя по всему, играют главную роль в управлении сборкой и разборкой эпителиальных слоев и групп клеток. Они не только приклеивают одну клетку к другой, но также служат креплениями для внутриклеточных актиновых нитей в сайтах межклеточной адгезии. Таким образом, картина распределения напряжений и схема перемещений

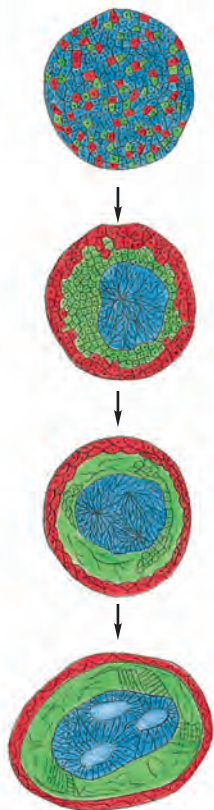


Рис. 22.77. Сортировка. Клетки из разных частей молодого зародыша земноводного самосортируются согласно своему происхождению. В представленном здесь классическом эксперименте клетки мезодермы (зеленые), клетки нервной пластинки (синие) и эпидермальные клетки (красные) были разъединены и затем повторно объединены в хаотичную смесь. Они самосортируются и образуют некую структуру, напоминающую нормальной зародыш: с пролегающей внутри «нервной трубкой», облегающим снаружи эпидермисом и залегающей промеж них мезодермой. (Переработано из P. L. Townes and J. Holtfreter, *J. Exp. Zool.* 128: 53–120, 1955. С любезного разрешения издательства Wiley-Liss.)

клеток в развивающейся ткани регулируются в соответствии со взаимной адгезией клеток.

22.6.8. Хорда удлиняется, а нервная пластинка сворачивается и образует нервную трубку

Гастрюляция является лишь первым, хотя и самым впечатляющим, из массовых перемещений клеток в процессе формирования нового организма. Некоторые из них мы рассмотрим далее.

У недавно претерпевшего гастрюляцию зародыша слой мезодермы разделен на отдельные пласты, лежащие по левую и правую стороны тела. Образование, определяющее центральную ось тела и производящее такое разделение мезодермального слоя, представляет собой очень рано специализировавшееся производное мезодермы, получившее название **хорда**. Этот упругий эластичный клеточный тяж, пролегающий под эктодермой, над энтодермой и между пластами мезодермы (см. рис. 22.72), берет свое начало от клеток самого организатора. Клетки хорды характеризуются экспрессией транскрипционного фактора *Brachyury* (это греческое слово означает «короткохвостый» и обозначает соответствующий мутантный фенотип); он принадлежит к тому же семейству Т-боксов содержащих белков, что и белок *VegT* вегетативных бластомеров.

По мере того как клетки хорды огибают дорсальную губу бластопора и продвигаются внутрь зародыша, они формируют столб ткани, который сильно удлиняется путем конвергентного растяжения. Вдобавок клетки хорды раздуваются за счет вакуолей, так что столб удлиняется еще сильнее и растягивает зародыш. Хорда является определяющей особенностью хордовых — типа животных, к которому относятся позвоночные. Она выступает одним из главных отличительных признаков позвоночных и не имеет никакого явного аналога у дрозофилы. У наиболее примитивных хордовых, у которых нет позвоночника, хорда сохраняется как упрощенный аналог позвоночного столба. У позвоночных она служит стержнем, вокруг которого группируются прочие мезодермальные клетки и в конечном счете образуют позвоночник.

Тем временем в лежащем сверху слое эктодермы происходят другие перемещения, в ходе которых формируются зачатки нервной системы. В процессе так называемой *нейруляции* широкая центральная область эктодермы, именуемая *нервной пластинкой*, утолщается, свертывается в трубку и отрывается от остальной части клеточного слоя. Трубку, образуемую таким образом из эктодермы, называют **нервной трубкой**; со временем она сформирует головной и спинной мозг (рис. 22.78).

Механика нейруляции зависит от изменения формы клеток и их расположения, обуславливающих свертывание эпителия в трубку (рис. 22.79). Сигналы, исходящие сначала от организатора, а позже от залегающих внутри зародыша хорды и мезодермы, определяют размер нервной пластинки, вызывают движения, которые заставляют ее свертываться, и помогают организовать внутреннюю структуру нервной трубки. В частности, хорда выделяет белок *Sonic hedgehog* — гомолог сигнального белка *Hedgehog* дрозофилы, который выступает в роли морфогена, управляющего экспрессией генов в прилегающих тканях (рис. 22.80).

22.6.9. Синхронизирующий экспрессию генов осциллятор управляет сегментацией мезодермы на сомиты

Генетически регулируемые изменения в картине адгезии клеток лежат в основе одного из самых поразительных и характерных процессов развития позвоночных — формирования сегментов оси тела.

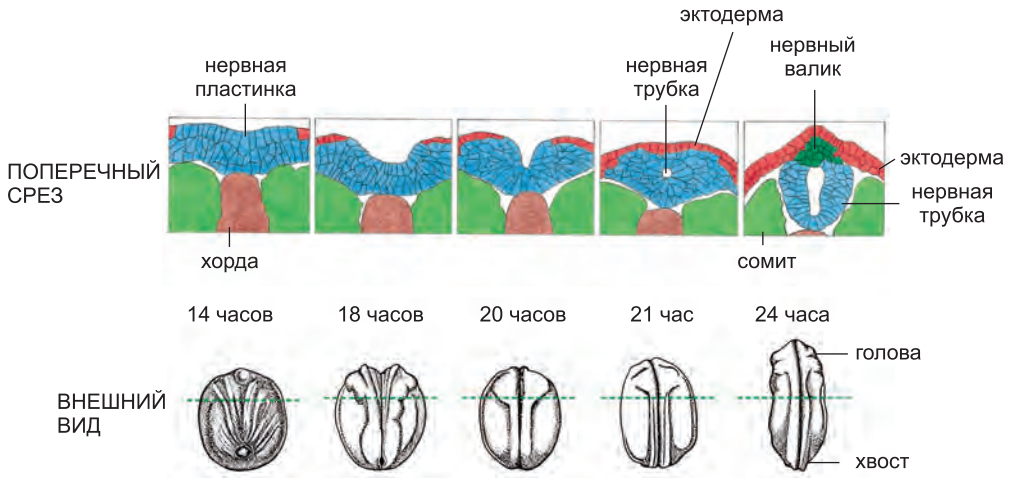
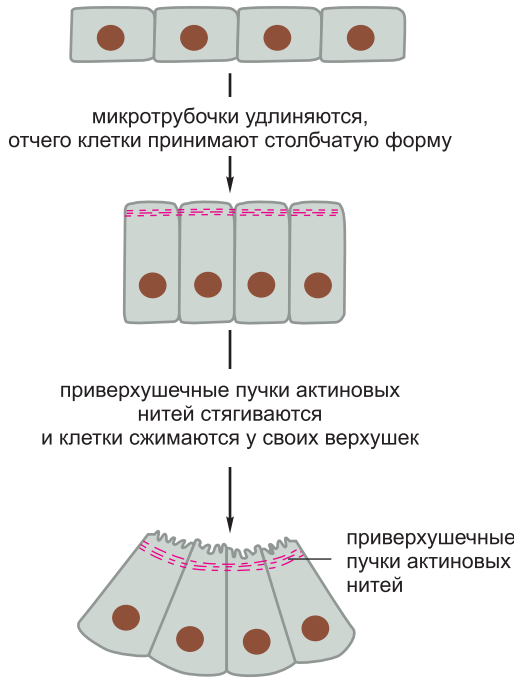


Рис. 22.78. Формирование нервной трубки у *Xelopus*. На внешних видах зародыши изображены со спины. Поперечные срезы сделаны в плоскости, обозначенной штриховыми линиями. (Переработано на основе Т.Е. Schroeder, *J. Embryol. Exp. Morphol.* 23: 427–462, 1970. С любезного разрешения The Company of Biologists.)

По обе стороны от новообразованной нервной трубки лежит пласт мезодермы (см. рис. 22.72). Чтобы сформировать повторяющийся ряд позвонков, ребер и сегментных мышц, этот пласт разбивается на отдельные блоки, или **сомиты** — сплоченные группы клеток, отделенные друг от друга промежутками. На **рис. 22.81, а**



данный процесс показан в том виде, как он протекает в зародыше курицы. Сомиты формируются один за другим начиная с головы и заканчивая хвостом. В зависимости от вида, окончательное число сомитов изменяется от менее 50 (у лягушки или птицы) до более чем 300 (у змеи). Необходимую ткань поставляет задняя, самая незрелая часть мезодермального пласта, называемая *предсомитной мезодермой*: по мере отступления к хвосту, продлевая зародыш, она оставляет за собой двурядную цепочку сомитов. Особый характер предсомит-

Рис. 22.79. Изгибание эпителия за счет изменения формы клеток, опосредуемого микротрубочками и актиновыми нитями. Данная схема опирается на наблюдения нейруляции у тритонов и саламандр, которые имеют эпителий толщиной всего лишь в один клеточный слой. Когда верхние концы клеток сужаются, мембрана их верхней поверхности сморщивается и собирается в складки.

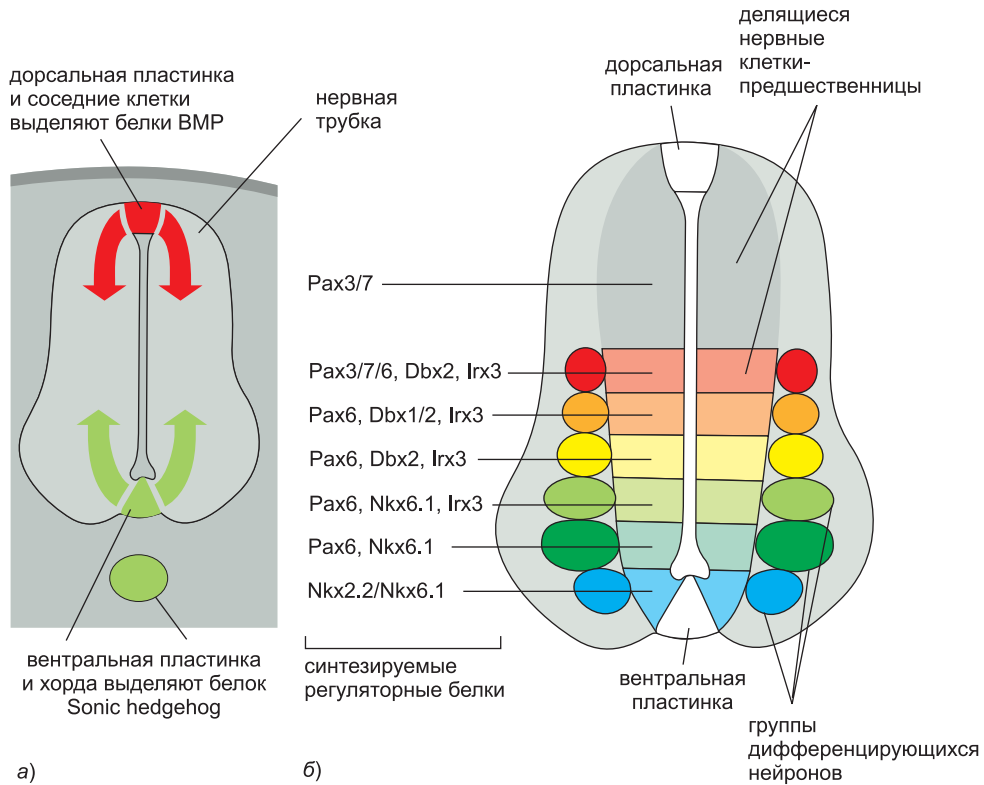


Рис. 22.80. Схема спинного мозга зародыша курицы в поперечном сечении; видно, как клетки, расположенные на разных уровнях по дорсо-вентральной оси, экспрессируют разные регуляторные белки. а) Сигналы, определяющие картину экспрессии генов по дорсо-вентральной оси: белок Sonic hedgehog из хорды и вентральной пластинки (вентральной срединной линии нервной трубки) и белки BMP из дорсальной пластинки (дорсальной срединной линии) выступают в роли морфогенов, управляющих экспрессией генов. б) Получающиеся картины экспрессии генов в нижней части развивающегося спинного мозга. Различные группы разрастающихся нервных клеток-предшественниц (в желудочковой зоне, вблизи просвета нервной трубки) и дифференцирующихся нейронов (в области мантии, ближе к поверхности) экспрессируют разные комбинации регулирующих генов белков. Почти все из обозначенных на этой схеме белков являются членами суперсемейства гомеодомен-содержащих транскрипционных факторов; в дифференцирующихся нейронах экспрессируются прочие гены из того же суперсемейства (включая белки Islet/Lim). Нейроны, экспрессирующие разные регуляторные белки, устанавливают связи с разными партнерами и образуют разные комбинации нейротрансмиттеров и рецепторов.

ной мезодермы поддерживается сигналами FGF: мРНК гена *Fgf8* синтезируется в хвостовом конце зародыша и медленно деградирует по мере того, как клетки отдаляются от этой области. Трансляция этой мРНК обуславливает установление градиента концентрации секретируемого белка FGF8, с наивысшим ее значением в хвостовой части зародыша.

Формированию промежутка между одним сомитом и следующим за ним предшествует изменение пространственной картины экспрессии генов в предсомитной мезодерме: клетки, собирающиеся сформировать заднюю часть нового сомита, включают экспрессию одного набора генов, тогда как клетки, предназначенные к формированию передней части следующего сомита, включают экспрессию другого набора генов. Оче-

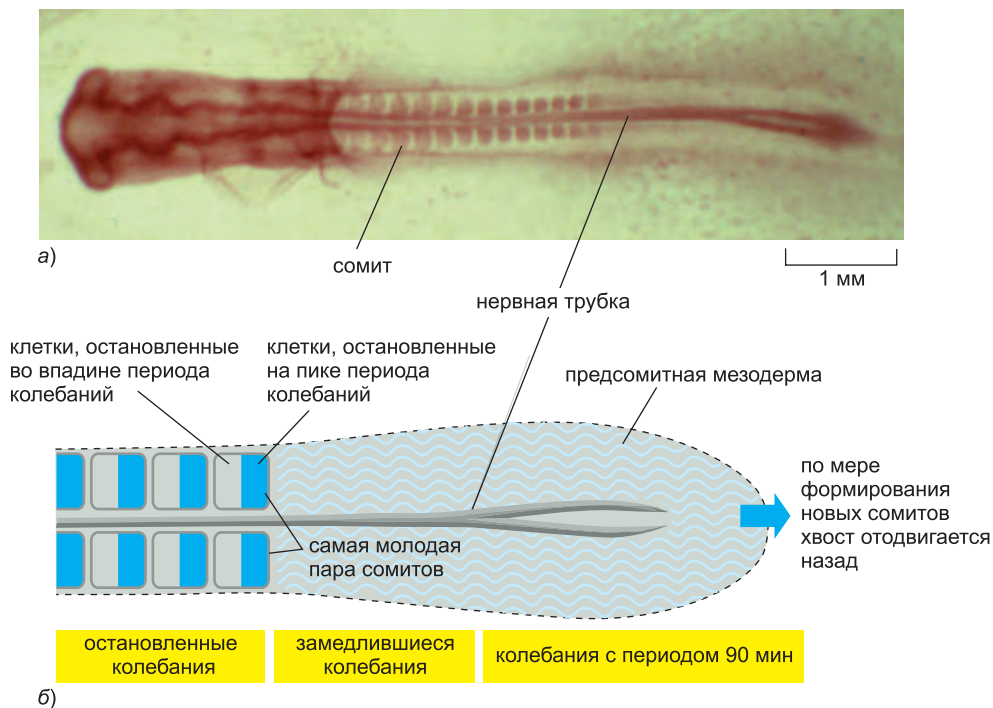


Рис. 22.81. Формирование сомитов в зародыше курицы. а) Зародыш курицы после 40 часов инкубации. б) Показано, как временные колебания экспрессии генов в предсомитной мезодерме преобразуются в пространственную переменную картину экспрессии генов в сформированных сомитах. В задней части предсомитной мезодермы каждая клетка колеблется с периодом времени 90 минут. По мере того как клетки созревают и выходят из предсомитной области, их колебания постепенно замедляются и наконец останавливаются, при этом клетки остаются в состоянии, зависящем от фазы колебания в момент останова. Вот так временные колебания экспрессии одних генов намечает переменную пространственную картину экспрессии других генов. (Фотоснимок а заимствован из Y.J. Jiang, L. Smithers and J. Lewis, *Curr. Biol.* 8: R868–R871, 1998. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

видно, что избирательное сцепление клеток, возникшее на основе дифференциальной экспрессии генов, и лежит в основе наблюдаемой физической сегментации.

В таком случае проблема состоит в том, чтобы понять, каким образом устанавливается повторяющаяся переменная картина экспрессии генов. Исследования, проводимые сначала на зародышах курицы, позволили несколько продвинуться в разрешении этого затруднения. Как обнаружено, экспрессия некоторых генов в задней части предсомитной мезодермы колеблется во времени. Первым из таких генов осцилляторов сомитов открыт ген *Hes1* — гомолог гена *pair-rule* дрозофилы *Hairy* и генов *E(spl)*, которые обеспечивают ответ на сигнал Notch. Длина одного полного периода колебания такого таймера сегментации (у курицы — 90 минут) равняется времени, затрачиваемому на закладку очередного сомита. По мере того как клетки выходят из предсомитной мезодермы для того, чтобы сформировать сомиты, иными словами, когда они освобождаются от действия сигнала FGF8, колебание экспрессии в них замедляется и наконец приходит к полной остановке. Одни клетки останавливаются в одном состоянии, другие остаются в другом, в со-

ответствии с фазой колебания экспрессии в момент выхода их из предсомитной мезодермы. Ген *Hes1* и некоторые другие гены-осцилляторы кодируют регуляторные белки; так, клетки, в которых концентрация белка FGF8 падает ниже критического уровня, когда они пребывают на пике своего колебания, включают один набор регуляторных генов, тогда как те, которые переходят этот порог на самом спаде колебательного цикла, включают другой их набор (рис. 22.81, б). Таким образом, как предполагают, периодическое колебание экспрессии генов в предсомитной мезодерме оставляет свой след в виде пространственно периодической картины экспрессии генов в созревающей мезодерме, а она, в свою очередь, диктует порядок разбиения ткани на физически обособленные блоки.

22.6.10. Запаздывающая отрицательная обратная связь способна генерировать тактовые колебания хронометра сегментации

Каков же тогда механизм, генерирующий эти временные колебания? Как такой таймер работает? У мыши обнаружены гены по крайней мере трех классов, демонстрирующие осциллирующую экспрессию в предсомитной мезодерме и кодирующие соответственно компоненты пути Notch, пути Wnt и пути Fgf; но большинство мутаций, которые нарушают работу таймера и убирают сегментацию на сомиты, приходится на компоненты пути Notch. В число последних входят гены (например, *Hes1* и, что еще более важно, его родственник *Hes7*), которые регулируются сигналом Notch и кодируют ингибирующие регуляторные белки. Некоторые из этих белков воздействуют непосредственно на регуляторную ДНК своего же собственного гена, с тем чтобы подавлять свою собственную экспрессию. В теории, такой нехитрый контур отрицательной обратной связи может служить основным генератором колебаний (рис. 22.82): когда такой ген транскрибируется, количество его белкового продукта нарастает до тех пор, пока транскрипция не начинает самоподавляться и синтез белка не прекращается; затем белок распадается, что позволяет возобновить транскрипцию, и так далее. Между началом нового периода транскрипции и моментом первого появления молекул регуляторного белка в ядре существует определенная задержка во времени, потому что известное время затрачивается на прохождение гена РНК-полимеразой, затем на созревание полученного РНК-транскрипта, далее на выход его из ядра и подготовку к синтезу с него молекулы белка и наконец на то, чтобы белок вошел в ядро и приступил к управлению транскрипцией. Такое запаздывание в контуре обратной связи, предположительно, определяет период колебаний таймера и, как следствие, размер закладываемых сомитов.

Большинство клеток каждого новообразованного сомита быстро дифференцируется и формирует блок мышц, соответствующий одному мышечному сегменту главной оси тела. После этого зародыш может (что он, впрочем, и делает) извиваться. Отдельные подгруппы клеток сомита пойдут по пути формирования позвонка и разных соединительных тканей, таких как дерма. Одна из подгрупп отделяется от сомита и мигрирует от него в боковую несегментированную мезодерму, проползая через пространство между другими клетками: эти эмигранты дадут начало клеткам почти всех остальных скелетных мышц тела, в том числе мышцы конечностей.

22.6.11. Ткани зародыша заполняются строго контролируемыми видами мигрирующих клеток

Эмигрирующие из сомитов предшественники мышечных клеток, или *миобласты*, уже коммитированы к своей цели, но еще не дифференцированы в явном виде.

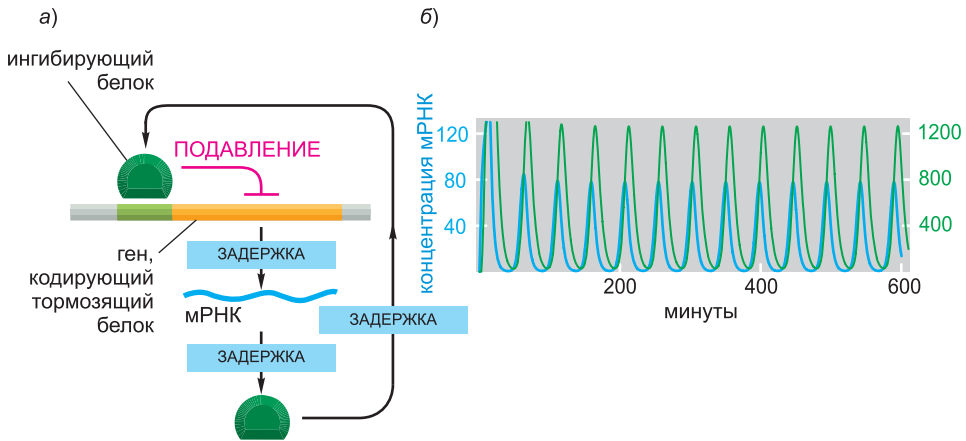


Рис. 22.82. Запаздывающая отрицательная обратная связь (гистерезис), обуславливает осциллирующую экспрессию генов. а) Единственный ген, который кодирует регуляторный белок, тормозящий свою собственную экспрессию с этого гена, может вести себя как осциллятор. Для того чтобы происходили колебания, в контуре обратной связи должна быть задержка (или несколько задержек), а время жизни мРНК и белка должно быть коротким по сравнению с общей задержкой. Тогда период колебаний будет определяться временем задержки. Согласно одной из теорий, водителем ритма в таймере сегментации, управляющем формированием сомитов, является контур обратной связи подобного рода, основанный на гене *Her7* у данио рерио или на гене *Hes7* у мыши (родственник *Hes1*). б) Предсказанные колебания концентрации мРНК гена *Her7* и соответствующего белка, вычисленные с использованием грубых оценок параметров контура обратной связи, подходящих для этого гена у данио. Значения концентрации выражены как число молекул на клетку. Предсказанный период близок к наблюдаемому, который у данио составляет 30 минут на сомит.

В колонизируемых ими тканях они смешиваются с клетками других классов, от которых они практически неотличимы; однако втайне от своих соседей они будут поддерживать экспрессию специфических для миобластов регуляторных белков (таких как Pax3 и члены семейства MyoD) и, когда придет время дифференцироваться, они и только они одни превратятся в мышечные клетки (рис. 22.83).

Конечная архитектура мышечной системы, к примеру в конечностях, определяется маршрутами, которыми следуют мигрирующие клетки, и выбором участков, которые они занимают. Зародышевые соединительные ткани, во-первых, образуют своего рода матрицу, через которую путешествуют миобласты, а во-вторых, обеспечивают сигналы, направляющие их расселение. Независимо от того, из какого сомита они происходят, миобласты, которые мигрируют в зачаток передней конечности, сформируют систему мышц, соответствующую передней конечности, а те, что мигрируют в зачаток задней конечности, сформируют мышечную систему, соответствующую задней конечности.

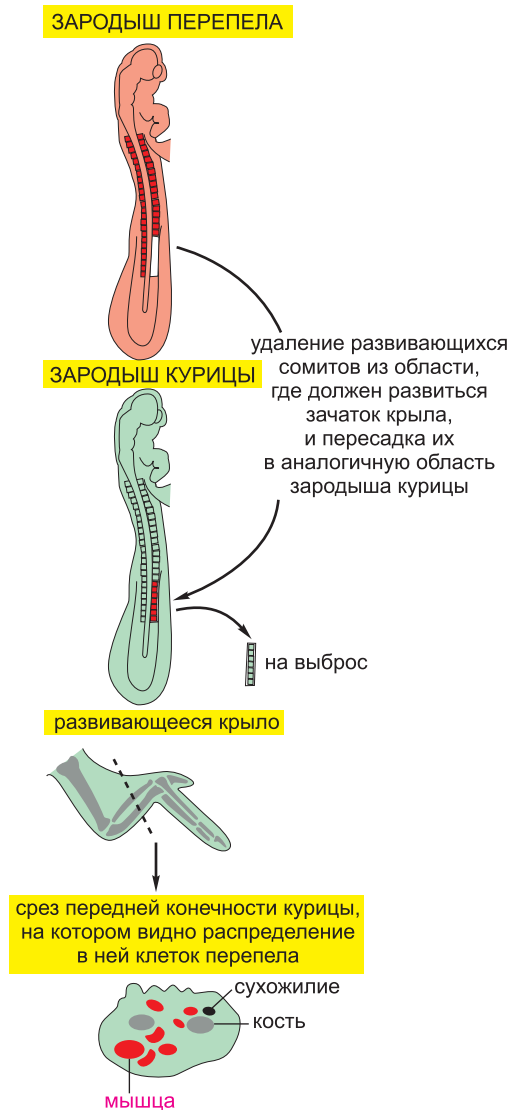
Тем временем мигрирующие клетки других классов избирают для своего передвижения другие маршруты. На линии, где нервная трубка отделилась от будущего эпидермиса, часть эктодермальных клеток отрывается от эпителия и, разобшившись, также мигрирует от него прочь через мезодерму (рис. 22.84). Это клетки **нервного гребня**; они дадут начало почти всем нейронам и глиальным клеткам периферической нервной системы, пигментным клеткам кожи, а также клеткам многих соединительных тканей головы, включая кости черепа и челюсти. Другие

Рис. 22.83. Происхождение мышечных клеток мускулатуры конечностей. Перемещения клеток можно проследить, пересаживая клетки зародыша перепела в зародыш курицы; эти два вида весьма схожи в своем развитии, но клетки перепела распознаваемы по характерному виду их ядрышек. Если клетки сомита зародыша курицы в возрасте 2-х дней инкубации заменить клетками сомита перепела и неделю спустя препарировать крыло будущей курицы, то обнаружится, что мышечные клетки в крыле курицы происходят от пересаженных сомитов перепела.

важные мигранты — предшественники клеток крови, зародышевых клеток и многих групп нейронов центральной нервной системы, а также *эндотелиальных клеток*, образующих кровеносные сосуды. Каждый из типов мигрирующих таким образом клеток колонизирует собственный участок тела. В результате таких перемещений большинство тканей в теле позвоночного представляют собой смеси клеток различного характера, происходящих из далеко отстоящих друг от друга частей зародыша.

По мере того как мигрирующая клетка путешествует через зародышевые ткани, она неоднократно вытягивает выросты цитоплазмы, которыми исследует ближайшую окружающую среду, улавливая тончайшие источаемые ею сигналы, к которым она особенно чувствительна благодаря своему специфическому набору белков-рецепторов клеточной поверхности. С внутренней стороны клетки эти рецепторные белки связаны с клеточным скелетом, за счет которого клетка перемещается вперед. Некоторые материалы внеклеточного матрикса, такие как белок фибронектин, служат сайтами прикрепления, которые помогают клетке продвигаться вперед; другие, типа протеогликана хондроитинсульфата, тормозят перемещение и сдерживают наплыв иммигрантов. Встречающиеся по пути оседлые клетки аналогичным образом могут иметь привлекающие или отталкивающие поверхности, а возможно, даже простирают филоподии, касаться ими мигрирующей клетки и влиять на ее поведение.

В этой смеси различных направляющих воздействий выделяется несколько особенно важных. В частности, клетки многих различных типов направляются хемотаксисом, который зависит от рецептора CXCR4. Этот белок клеточной поверхности принадлежит к семейству связанных с G-белком рецепторов клеточной поверхности



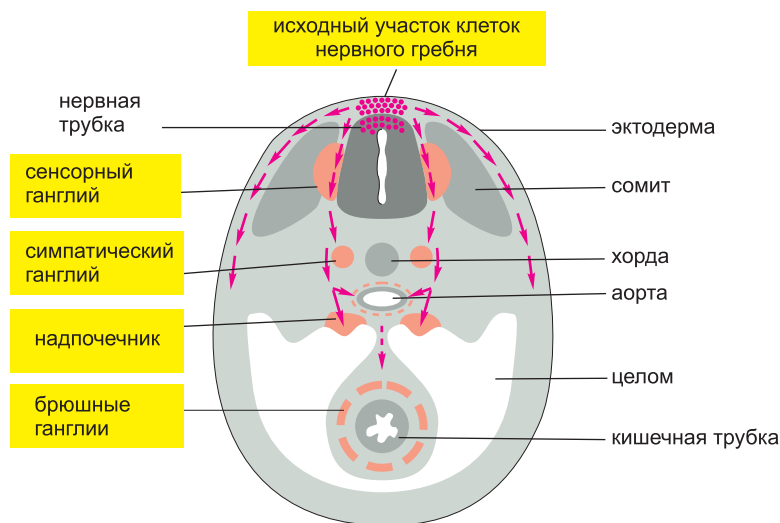


Рис. 22.84. Основные пути миграции клеток нервного Гребня. На схематическом поперечном срезе через среднюю часть туловища представлен зародыш курицы. Глубоко залегающие производные нервного Гребня обозначены *желтыми* полями с текстом. Клетки, которые избирают путь, пролегающий непосредственно под эктодермой, сформируют пигментные клетки кожи; те, что идут глубинным путем через сомиты, сформируют нейроны и глиальные клетки сенсорных и симпатических ганглиев, а также части надпочечника. Нейроны и глиальные клетки брюшных ганглиев, располагаемых в стенке кишечника, формируются из тех клеток нервного гребня, которые мигрируют по длине тела, а исходят из области шеи и крестцовой области. У дрозофилы такое происхождение имеют нейроны стенки кишечника, которые мигрируют и из головного конца зародыша (см. также рис. 19.23.)

и активируется внеклеточным лигандом по имени SDF1. Клетки, экспрессирующие рецептор CXCR4, могут найти свой путь по следам, намеченным для них вырабатывающими лиганд SDF клетками (рис. 22.85). Хемотаксис к источникам лиганда SDF1 играет главную роль в ориентировании перемещений клеток самых разных типов: лимфоцитов и других лейкоцитов, нейронов в развивающемся головном мозге, мышечных клеток-предшественниц, вливающих в зачатки конечностей, первичных зародышевых клеток на их пути к половым железам и, наконец, раковых клеток, расползающихся своими страшными метастазами.

22.6.12. Распределение мигрирующих клеток зависит от факторов выживания, равно как и от управляющих сигналов

Окончательное распределение мигрирующих клеток зависит не только от избранных ими маршрутов, но также и от того, насколько благополучно они перенесут дорогу и насколько им будет хорошо в той среде, которую найдут в конце своего пути. Специфические участки обеспечивают переселенцев факторами выживания, необходимым для специфических категорий мигрирующих клеток. Например, клетки нервного гребня, которые дают начало пигментным клеткам кожи и нервным клеткам кишечника, зависят от пептидного фактора *endothelin-3*, выделяемого тканями на миграционных путях; мутантные мыши и люди, дефектные по генам, кодирующим этот фактор или его рецептор, имеют непигментированные (альбиносные) области на коже и страдают от потенциально губительных пороков кишечника,

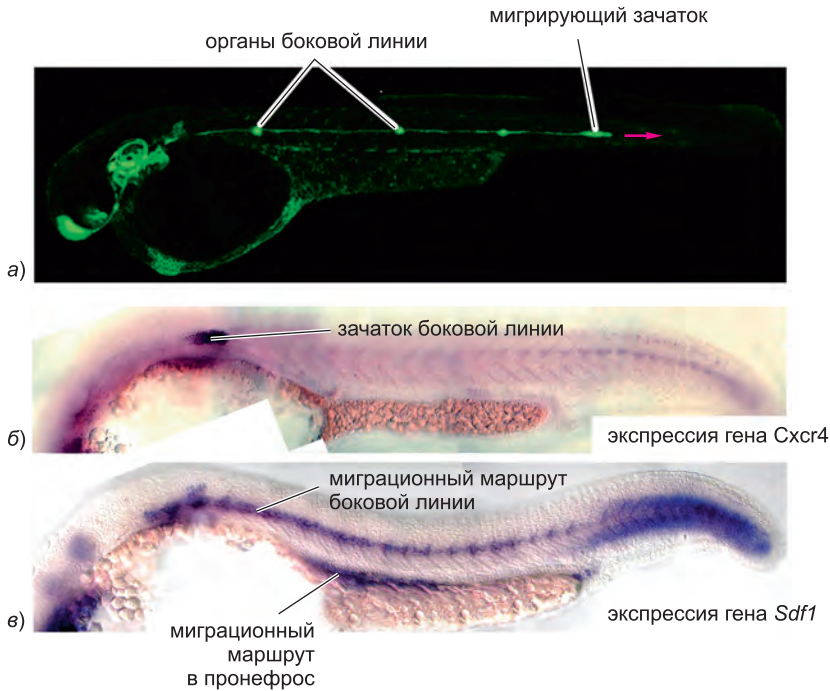


Рис. 22.85. Миграция зачатка боковой линии у зародыша данио рерио, управляемая белками SDF1 и CXCR4. Боковая линия образована рядом механочувствительных органов (напоминающих группы сенсорных клеток во внутреннем ухе), которые улавливают движение воды по поверхности рыбы или земноводного. а) Они возникают как группы клеток, закладываемые зачатком, который мигрирует вдоль боковой стороны зародыша от участка на голове и до хвоста, как показано на примере этого 2-дневного зародыша, у которого клетки боковой линии помечены экспрессией зеленого флуоресцентного белка. б) Клетки зародыша экспрессируют рецептор хемотаксиса CXCR4, проявленный в данном препарате 1-дневного зародыша посредством гибридации *in situ*. в) Путь, которым они последуют, отмечен экспрессией лиганда SDF1, проявленного при помощи гибридации *in situ* в другом 1-дневном экземпляре. Если лиганд отсутствует по нормальному маршруту следования (в результате мутации), то зачаток отступает от своего намеченного маршрута и следует другим путем (более тяготеющим к вентральной стороне), отмеченным другой полосой SDF1, указывающей нормальный путь для другой миграционной структуры — пронефроса. (Фотоснимок а любезно предоставлен David Gilmour; снимки б и в заимствованы из N. V. David et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 99:16297–16302, 2002. С благосклонного разрешения Национальной академии наук США.)

проистекающих из отсутствия иннервации кишечника (ввиду значительного расширения ободочной кишки такое состояние названо «мегаколон»).

Для выживания зародышевых клеток, предшественниц клеток крови и происходящих из нервного гребня пигментных клеток, кажется, необходимо удовлетворить по крайней мере одно общее для всех них требование. Оно состоит в наличии трансмембранного рецептора, названного *Kit*, в мембране мигрирующих клеток, и лиганда, названного *Steel factor* (фактор Стила), производимого клетками ткани, через которую кочующие клетки мигрируют, и (или) ткани, которую они заселят. Индивидуумы с мутациями в генах любого из этих белков отличаются недостатками пигментации, нарушениями развития клеток крови и проблемами с образованием половых клеток (рис. 22.86).



Рис. 22.86. Эффект мутаций в гене *Kit*. И ребенок, и мышенок гетерозиготны по мутации с потерей функции, которая оставляет им только половину нормального количества продукта гена *Kit*. В обоих случаях пигментация нарушена, потому что пигментные клетки зависят от продукта гена *Kit* в качестве рецептора фактора выживания. (Снимки любезно предоставлены R. A. Fleischman и заимствованы из *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 88: 10885–10889, 1991. С благосклонного разрешения National Academy of Sciences.)

22.6.13. Лево-правая асимметрия тела позвоночного животного обусловлена молекулярной асимметрией зародыша на ранних стадиях развития

Если судить по внешнему виду, то позвоночные животные обладают двусторонней симметрией, однако многие из их внутренних органов — сердце, желудок, печень и так далее — расположены весьма асимметрично. Такая асимметрия хорошо воспроизводима: у 99,98% людей сердце находится слева. Мы уже видели, как зародыш позвоночного развивает свои внутренние и внешние слои тканей и оси своего тела: передне-заднюю и дорсо-вентральную. Но как возникает лево-правая асимметрия?

Генетические исследования на млекопитающих показывают, что эта проблема может быть разбита на два отдельных вопроса: первый — о создании асимметрии как таковой, а второй — об ее ориентации. Известно несколько мутаций, возникающих у человека и у мыши, которые сообщают лево-правой оси случайный характер: у 50% мутантных индивидуумов внутренние органы расположены нормальным образом, а другие 50% обладают обращенной анатомией, когда сердце находится справа. По всему видно, что у таких индивидуумов механизм, обуславливающий различие левой и правой сторон, работает правильно, а механизм, который принимает решение между двумя возможными вариантами ориентации лево-правой оси, дает сбой.

Первым шагом на пути к основе этих явлений послужило открытие молекулярных асимметрий, которые предшествуют первым явным анатомическим асимметриям. Самые ранние признаки обнаружены в картинах экспрессии генов в окрестностях *узла* — присущего мыши и курице аналога организатора Шпемана, характерного для лягушки. В частности, ген *Nodal*, кодирующий белок-член надсемейства TGF β , в этой области экспрессируется асимметрично (не только у мыши, но также и у курицы, лягушки и данио) (рис. 22.87). Асимметрия экспрессии гена *Nodal* в ближайшей окрестности узла передается наружу, в результате чего образуется широкая полоса экспрессии гена *Nodal* в мезодерме по левой (и только по

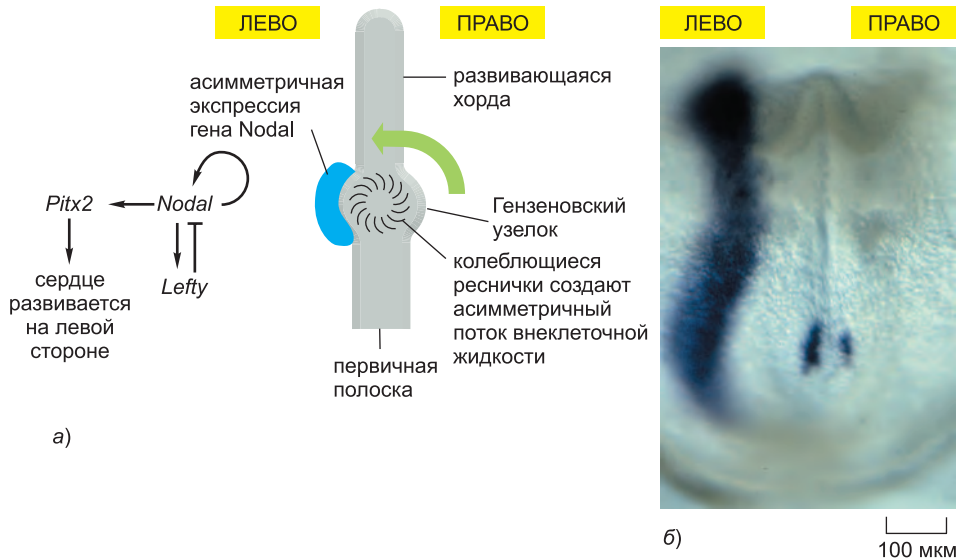


Рис. 22.87. Спиральные ритмические движения ресничек в узле и начало лево-правой асимметрии.
 а) Ритмические движения ресничек направляют ток жидкости к одной стороне узелка, в силу чего экспрессия генов в его окрестности становится асимметричной. Согласно одной теории, такой поток проявляет данный эффект за счет переноса внеклеточных сигнальных белков на одну сторону. Другая теория обращает внимание на то, что реснички могут работать также и механорецепторами, и предполагает, что подгруппа находящихся в узле ресничек отвечает на вызванное током жидкости отклонение открытием каналов ионов Ca^{2+} , с тем чтобы создать повышенную концентрацию ионов Ca^{2+} в клетках на одной стороне узла. б) Проявленная при помощи гибридизации *in situ* итоговая асимметричная картина экспрессии гена *Nodal* (кодирующего сигнальный белок, принадлежащий к надсемейству $\text{TGF}\beta$) в окрестности узелка (два синих пятна снизу) в зародыше мыши в возрасте 8 дней беременности. Как видно, на этой стадии развития асимметрия уже передалась от узелка наружу, мезодерме боковой пластинки, где ген *Nodal* экспрессируется на левой стороне (обширная удлиненная синяя область) и не экспрессируется на правой. (Фотоснимок б любезно предоставлен Elizabeth Robertson.)

левой) стороне тела зародыша. Механизм, который передает асимметрию от узла и ограничивает экспрессию гена *Nodal* в пространстве, все еще так и не понят и может изменяться от одного класса позвоночных к другому. Однако у всех видов животных, он, кажется, зависит от контуров обратной связи, связанных с геном *Nodal* вместе с генами второй группы — *Lefty*. Они, как, впрочем, и сам ген *Nodal*, напрямую регулируются сигнальным путем *Nodal*, а их продукты, белки *Lefty*, родственны белкам *Nodal*; но белки *Lefty* диффундируют более обширно и выступают в роли антагонистов белка *Nodal*. У мышей с нокаутом гена *Lefty1* правая сторона тела часто превращается в зеркальное отображение левой, так что лево-правая асимметрия теряется.

Еще один из непосредственно регулируемых сигнальным путем *Nodal* генов, ген *Pitx2* (кодирующий регуляторный белок), связывает результат взаимодействий сигнальных путей *Nodal*–*Lefty* с последующим анатомическим развитием. Белок *Nodal* обуславливает экспрессию гена *Pitx2* на левой стороне тела и, таким образом, сообщает асимметрию сердцу и другим внутренним органам.

В свете вышеописанных открытий нам остается лишь найти источник исходной асимметрии экспрессии гена *Nodal*. Каков бы ни был механизм, у нормального

животного картина протекающих в Гензеновском узелке событий должна быть такой, чтобы левоспецифические гены экспрессировались на левой стороне тела: должна быть какая-то связь между механизмом, который создает асимметрию, и механизмом, что ориентирует ее так или иначе. Ключ к разгадке тайны ориентационного механизма выплыл на свет в шведской клинике бесплодия. Обнаружено, что у представителей небольшой подгруппы бесплодных мужчин сперматозоиды были неспособны передвигаться из-за дефекта в молекулах динеина, необходимых для движений ресничек и жгутиков. Эти мужчины страдали также хроническим бронхитом и синуситом, потому что реснички в их дыхательных путях тоже были дефектны. Что еще более поразило исследователей, у 50% из них внутренние органы были перевернуты слева направо, так что сердце располагалось справа.⁵ Сначала данные результаты казались совершенно необъяснимыми, однако вскоре выяснилось, что подобные эффекты наблюдаются у млекопитающих с иными мутациями, приводящими к появлению дефектных ресничек. Эти наблюдения позволили предположить, что ориентация лево-правой оси тела так или иначе зависит от колебаний ресничек.

Замедленная микрокиносъемка в живом зародыше мыши показывает, что клетки на внутренней поверхности Гензеновского узелка имеют реснички, которые колеблются спиральным образом: подобно винтовой резьбе они обладают определенным направлением, и в узле они располагаются в небольшой полости, которая имеет такую форму, что ритмичные движения ресничек движут поток жидкости к левой стороне узла (см. рис. 22.87, а). В соответствии с одной из теорий, сигнальные белки, переносимые в этом потоке на левую сторону, обеспечивают смещение картины экспрессии, в зависимости от которого лево-правая ось тела мыши ориентируется тем или иным образом. Другая теория предполагает, что в этой системе, так же как и в некоторых других, реснички служат не только движителями потока жидкости, но также и механорецепторами, которые отвечают на отклонение в распределении сигнальных белков тем, что создают асимметричный поток ионов Ca^{2+} через узелок и тем самым влияют на прилегающие к нему ткани.

Направление движений ритмичного танца ресничек отражает лево-правую асимметрию органических молекул, из которых построены все живые существа. Поэтому весьма вероятно, что она-то и является оригинальным «виновником» право-левой асимметрии нашей анатомии.

Заключение

Развитие животного сопровождается грандиозными по своему размаху перемещениями клеток. Так, во время гастрюляции клетки с наружной поверхности раннего зародыша перемещаются внутрь, образуют кишечную полость и создают три зародышевых листка — эндодерму, мезодерму и эктодерму, — из которых строятся все высшие животные. У позвоночных свойственные гастрюляции движения клеток организуются сигналами, исходящими от организатора Шпемана (дорсальная губа бластопора земноводного, соответствующая Гензеновскому узелку в зародыше курицы или мыши). Эти сигналы определяют дорсо-вентральную ось тела и управляют конвергентным растяжением, при котором слой клеток, движущийся внутрь тела, удлиняется по оси голова-хвост и одновременно сужается под прямым углом к ней. Активные перемещения

⁵ Это заболевание называется синдромом Картагенера. — Прим. ред.

отдельных клеток в ходе их перестановок, которые и являются движущей силой конвергентного растяжения, управляются с помощью сигнального пути плоскостной полярности *Frizzled/Dishevelled* — ветви сигнального пути *Wnt*, которая контролирует актиновый цитоскелет.

Последующее развитие сопряжено со множеством дальнейших перемещений клеток. Часть эктодермы утолщается, свертывается и отделяется, в результате чего образуется нервная трубка и нервный гребень. Пролегающий по срединной линии тяж специализированных клеток, называемый хордой, удлиняется и формирует центральную ось зародыша. Длинные пласты мезодермы по обе стороны от хорды последовательно сегментируются на сомиты. Мигрирующие клетки из сомитов и нервного гребня, отрываются от своих первоначальных соседей и путешествуют по зародышу в надежде заселить новые участки. Первичные половые клетки и многие другие мигрирующие клетки направляются по определенным маршрутам с помощью хемотаксиса, зависящего от рецептора *CXCR4* и его лиганда *SDF1*. Специфические молекулы клеточной адгезии, такие как кадгеринны и интегринны, управляют этими перемещениями клеток и контролируют избирательное связывание клеток друг с другом в пункте назначения.

В конечном счете схема перемещений клеток обуславливается картиной экспрессии генов, которая определяет свойства клеточной поверхности и подвижность клеток. Так, формирование сомитов зависит от периодически повторяющейся картины экспрессии генов, которая закладывается в мезодерме с помощью биохимического осциллятора — таймера сегментации — и диктует порядок разбиения клеточных масс на отдельные блоки. Подобным же образом лево-правой анатомической асимметрии тела позвоночного животного предшествует лево-правая асимметрия картины экспрессии генов раннего эмбриона. Эта асимметрия, по крайней мере у млекопитающих, в конечном счете зависит от направления биения ресничек на периферии Гензеновского узелка.

22.7. Мышь

Мышиный зародыш — крохотный и скрытый во чреве своей матери, является для биологии развития крепким орешком. Однако он имеет две неоспоримо притягательные стороны. Во-первых, мышь относится к млекопитающим, а млекопитающие — к животным, которые нас, как представителей человечества, занимают более всего. Во-вторых, среди млекопитающих мышь — один из наиболее удобных для генетических исследований организмов, поскольку она мала и быстро размножается. Эти два фактора подстегнули огромную научно-исследовательскую работу, увенчавшуюся разработкой некоторых весьма эффективных экспериментальных процедур. Благодаря всем этим качествам мышь стала главным модельным организмом для экспериментирования в области генетики млекопитающих и выступила наиболее интенсивно изучаемым заменителем человека. Нас разделяет всего лишь около 100 миллионов лет эволюции. Ее геном того же размера, что и наш, и между генами мыши и человека имеет место почти взаимно однозначное соответствие. Наши белки, как правило, идентичны на 80–90% (если судить по последовательности аминокислот), а при сравнении последовательностей регуляторной ДНК обнаруживаются также и протяженные блоки близкого подобия нуклеотидной последовательности.

Изобретательность и упорство искусников биологии развития помогли им найти подходы к раннему зародышу мыши, дающие возможность не нарушать его покой, а также разработать способы выведения мышей на заказ — с мутациями в любом желаемом гене. Сейчас почти любая генетическая модификация, которая может применена к червю, мухе или данио рерио, может быть осуществлена также и для мыши, причем в некоторых случаях даже с большим изяществом. Затраты на исследования с мышами намного выше, однако они немало умяются на фоне столь же высокой отдачи. В итоге мышь стала ценнейшим кладезем информации обо всех сторонах молекулярной генетики развития — ключевой модельной системой не только для млекопитающих, но также и для других животных. Она дала нам, к примеру, большую часть известных нам сведений о генах *Hox*, о лево-правой асимметрии, о контрольных точках запрограммированной смерти клетки, о роли сигнального пути Notch и многих других вещах, так или иначе связанных с развитием.

Мы уже неоднократно обращались к данным, полученным в моменты взаимодействия с мышами. В следующей главе, где мы обсуждаем ткани взрослого и происходящие в них процессы развития, мы будем опираться на них даже еще основательнее. В этом параграфе мы рассмотрим характерные особенности развития мыши, благодаря которым и появилась возможность разработать методологию генетических манипуляций. Кроме того, примера ради мы вкратце расскажем о том, как мышь помогла нам осветить еще один важный вопрос, затрагивающий развитие, — вопрос об образовании органов типа легких и желез за счет взаимодействий между зародышевой соединительной тканью и эпителием.

22.7.1. Развитие млекопитающих начинается с особой стадии

Зародыш млекопитающего начинает свое развитие исключительным образом. Огражденный от внешнего мира в матке матери, он не испытывает потребности (присущей зародышам большинства остальных видов) как можно быстрее пройти все ранние стадии развития. Более того, развитие плаценты скоро начинает обеспечивать питание от матери, так что яйцеклетке нет необходимости содержать большие запасы исходных продуктов типа желтка. Яйцеклетка мыши имеет диаметр лишь около 80 мкм, и поэтому ее объем примерно в 2 000 раз меньше, чем таковой типичного яйца земноводного. Ее деления при дроблении происходят не быстрее, чем деления многих обычных соматических клеток, и транскрипция генов начинается уже на 2-клеточной стадии. Что более важно, если поздние стадии развития млекопитающего подобны таковым других позвоночных животных типа *Xenopus*, то в самом его начале млекопитающие делают большой крюк, необходимый им для формирования сложного набора структур, в особенности амниотического мешка и плаценты, которые охватывают зародыш вместе с защищающей его средой и обеспечивают ему обмен метаболитами с матерью. Как и остальная часть тела, эти структуры происходят из оплодотворенной яйцеклетки, но называются *внезародышевыми*, потому что отбрасываются при рождении и не образуют никакой части взрослого организма. Подобные придаточные структуры формируются в процессе развития птиц и пресмыкающихся.

События на ранних стадиях развития мыши подытожены на [рис. 22.88](#). Оплодотворенная яйцеклетка делится и производит 16 клеток на 3-й день после оплодотворения. Поначалу клетки сплываются очень слабо, но начиная с 8-клеточной стадии они слипаются сильнее и подвергаются *уплотнению*, в результате чего образуют плотный шар клеток, именуемый *морулой* (от латинского

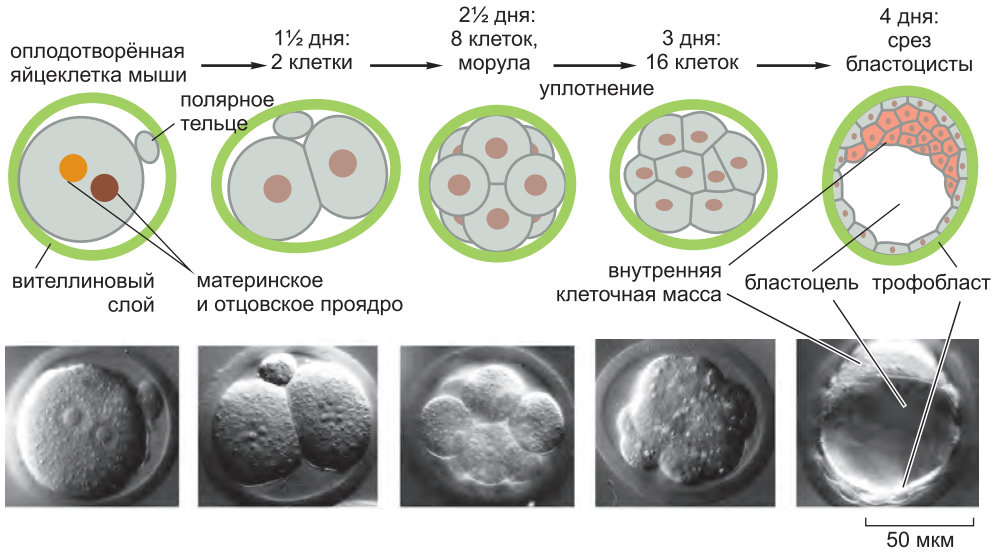


Рис. 22.88. Ранние стадии развития мыши. Вителлиновый слой — желеобразная оболочка, из которой зародыш высвобождается по прошествии нескольких дней после оплодотворения и имплантируется в стенку матки. (Фотографии любезно предоставлены Patricia Calarco.)

слова, означающего «тутовая ягода») (рис. 22.89). Между клетками образуются верхушечные плотные соединения, наглухо запечатывающие внутреннюю часть морулы от внешней среды. Вскоре после этого развивается внутренняя полость, преобразующая морулу в *бластоцисту* — полый шар. Внешний слой клеток, образующий стенку этой сферы, называют *трофобластом*. Из него в свое время разовьются внезародышевые ткани. На одной стороне полости располагается внутренний ком клеток, называемый *внутренней клеточной массой*. Он даст начало всему телу собственно зародыша.

После того как зародыш покинул свою желеобразную оболочку (приблизительно на четвертый день), клетки трофобласта образуют плотный контакт со стенкой матки, начиная процесс имплантации, который приведет к образованию плаценты.

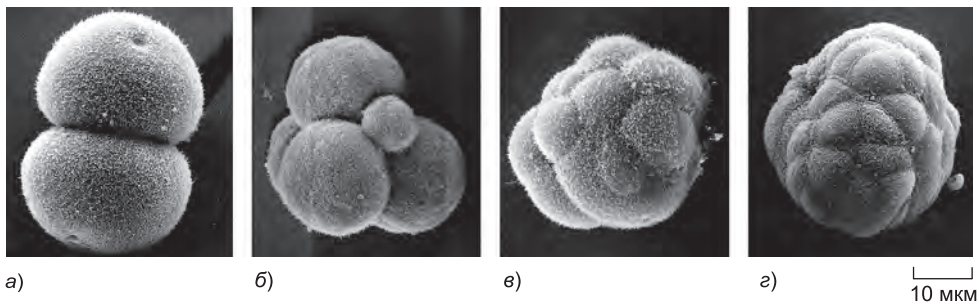


Рис. 22.89. Растровые микрофотоснимки зародыша мыши на ранних стадиях развития. Вителлиновый слой удален. а) Двуклеточная стадия. б) Четырехклеточная стадия (наряду с четырьмя бластомерами, видно полярное тельце — см. рис. 21.23). в) Уплотнение из восьми- в шестнадцатиклеточную морулу. г) Бластоциста. (Снимки а–в любезно предоставлены Patricia Calarco; фото г взято из P. Calarco and C. J. Epstein, *Dev. Biol.* 32: 208–213, 1973. Все с благосклонного разрешения издательства Academic Press.)

Тем временем внутренняя клеточная масса растет и начинает дифференцироваться. Часть ее дает начало некоторым дальнейшим внезародышевым структурам (таким как желточный мешок), тогда как остальная ее часть идет на формирование самого зародыша, последовательно проходя процессы гаструляции, нейруляции и так далее, которые в основе своей подобны наблюдаемым у других позвоночных, хотя искажения геометрии делают некоторые из таких аналогий на первый взгляд трудноразличимыми.

22.7.2. На ранних стадиях развития зародыш млекопитающего обладает способностью к авторегуляции



У зародышей млекопитающих на ранних стадиях развития локализованные внутриклеточные детерминанты играют лишь незначительную роль, и бластомеры, образующиеся в ходе первых нескольких клеточных делений, удивительно приспособляемы. Если ранний зародыш разделить надвое, то можно получить пару идентичных близнецов — два полноценных нормальных индивидуума из одной-единственной клетки. Аналогично, если разрушить одну из клеток 2-клеточного зародыша мыши, проколов ее иглой, и полученный «полуэмбрион» поместить для дальнейшего развития в матку суррогатной матери, во многих случаях на свет появится совершенно нормальная мышь.

И наоборот, можно объединить два 8-клеточных мышинных зародыша в единую гигантскую морулу, которая затем развивается в мышшь нормального размера и строения (рис. 22.90). Такие существа, образованные из совокупностей генетически различных групп клеток, называют *химерами*. Химеры можно получать также и способом введения клеток от раннего зародыша одного генотипа в бластоцисту другого генотипа. Введенные клетки включаются во внутреннюю клеточную массу принимающей бластоцисты и из нее развивается химерное животное. Таким образом, на основе одиночной клетки, взятой от 8-клеточного зародыша или от внутренней клеточной массы другой ранней бластоцисты, можно составлять какие угодно комбинации клеток в химерном организме. Где бы ни оказалась привнесенная «чужая» клетка, она будет адекватно реагировать на сигналы от своих новых соседей и будет следовать соответствующему пути развития.

Рис. 22.90. Процедура создания химерной мыши: объединение двух морул с разными генотипами.

Эти данные позволяют сделать два вывода. Во-первых, на ранних стадиях развития отвечающая за него система самонастраивается, так что даже в случае нарушения стартовых условий формируется нормальная структура организма. Как принято говорить, целые зародыши или отдельные их части, обладающие этим свойством, являются **регуляторными**. Во-вторых, отдельные клетки внутренней клеточной массы первоначально *политотенциальны* или очень близки к этому: хотя они не способны сформировать трофобласт, но могут дать начало любой части тела взрослого организма, в том числе и половым клеткам.

22.7.3. Зародыш млекопитающих содержит тотипотентные эмбриональные стволовые клетки

Если нормальный ранний зародыш мыши пересадить в почку или яичко взрослого животного, то его развитие после этого нарушится, но не приостановится до конца. Результатом явится причудливое опухолевое разрастание, известное под названием *тератома*, которое состоит из дезорганизованной массы клеток, содержащей дифференцированные ткани многих разновидностей — кожную, костную, железистого эпителия и так далее — вперемешку с недифференцированными стволовыми клетками, продолжающими делиться и создавать еще больше этих дифференцированных тканей.

Исследование стволовых клеток в тератомах и опухолях родственных им типов привело к открытию, что их поведение отражает замечательное свойство клеток нормальной внутренней клеточной массы: попав в подходящую среду, они могут быть индуцированы к неограниченному разрастанию при сохранении своего политотенциального характера. Культивируемые клетки, обладающие этим свойством, называют **эмбриональными стволовыми клетками**, или, сокращенно, **ES клетками**⁶. Их можно получить, поместив нормальную внутреннюю клеточную массу в культуру и рассеивая клетки по мере их разрастания. Отделение клеток от своих обычных соседей и помещение их в соответствующую культуральную среду, несомненно, блокирует нормальную программу изменения характера клетки со временем и тем самым позволяет клеткам продолжать неограниченно делиться без дифференцировки. Как мы увидим в следующей главе, многие ткани взрослого организма также содержат стволовые клетки, способные неограниченно делиться без окончательной дифференцировки, однако такие *взрослые стволовые клетки*, когда им выпадает шанс дифференцироваться, обычно дают начало клеткам, дифференцирующимся лишь в узко ограниченном диапазоне типов.

Состояние, в котором задерживаются ES клетки, кажется, эквивалентно такому нормальному клеткам внутренней клеточной массы. Это можно показать, если взять ES клетки с чашки для культивирования и ввести их в нормальную бластоцисту (рис. 22.91). Введенные клетки включаются во внутреннюю клеточную массу бластоцисты и могут внести вклад в формирование нормальной во всех отношениях химерной мыши. Потомки введенных стволовых клеток можно обнаружить практически в любой из тканей этой мыши, где они хорошо дифференцируются соответственно своему новому местоположению и даже могут сформировать жизнеспособные половые клетки. Необычайно приспособляемое поведение ES клеток показывает, что стимулы от соседей такой клетки не только управляют выбором между разными путями дифференцировки, но могут также остановить или пустить в ход хронометр

⁶ По-русски: ЭСК. — Прим. ред.

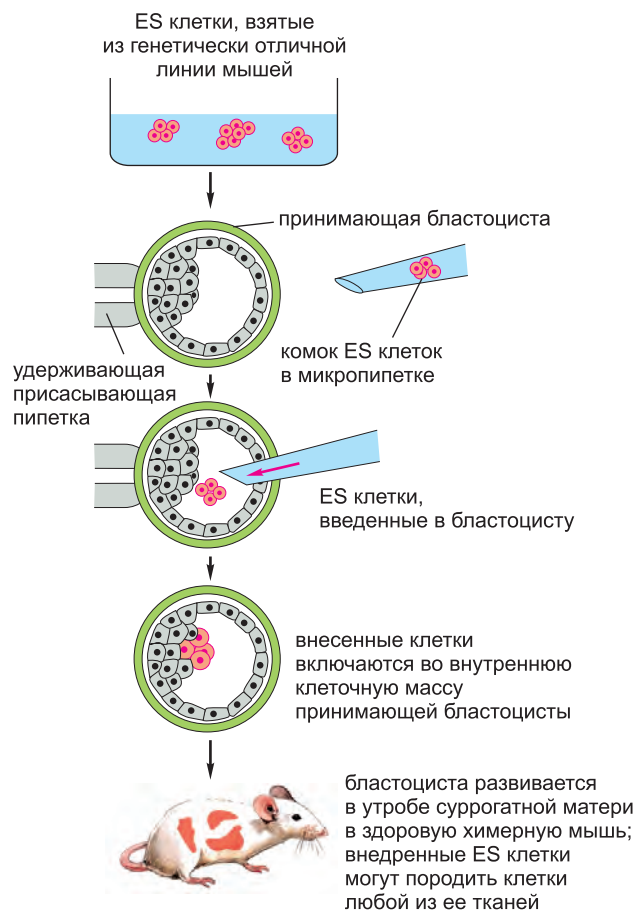


Рис. 22.91. Создание химерной мыши с помощью ES клеток. Чтобы произвести на свет здоровую химерную мышшь, можно объединить культивируемые ES клетки с клетками нормальной бластоцисты; в таком случае они могут внести вклад в формирование всех ее тканей и даже зародышевой линии. Таким образом, ЭС клетки чрезвычайно полипотенциальны.

развития, а ведь все это — процессы, последовательно продвигающие клетку от зародышевого ко взрослому состоянию.

В практическом отношении ES клетки имеют двойное значение. Во-первых, с медицинской точки зрения они предлагают перспективу создания универсального источника клеток для восстановления поврежденных и дефектных тканей взрослого организма, что мы обсудим в конце следующей главы. Во-вторых, ES клетки позволяют претворять в жизнь наиболее точно контролируемые формы генетической модификации и создавать в их рамках жи-

вотных с практически любым желательным изменением в их геноме. Как мы уже говорили в главе 8, в данной методике используют генетическую рекомбинацию для замены нормальной последовательности ДНК в геноме ES клетки (в выбранном участке) на искусственно сконструированную молекулу плазмидной ДНК. Хотя лишь редкая клетка правильно встраивает такую конструкцию ДНК, существуют процедуры отбора, которые могут отыскать эту клетку среди тысяч клеток, в которые была трансфецирована плазида. Отобранные генетически модифицированные ES клетки можно ввести в бластоцисту и обратить в химерную мышшь. Если повезет, такие ES клетки дадут начало первичным половым клеткам этой мыши, способным выступить в роли основателей нового поколения мышей, которые будут полностью состоять из клеток, несущих тщательно спланированную мутацию. Таким образом, из чаши для культивирования может появиться целая мутантная мышшь (см. рис. 8.65).

22.7.4. Взаимодействия между эпителием и мезенхимой приводят к образованию ветвящихся трубчатых структур

В животном сообществе позвоночные имеют немалый вес, которым обязаны по большей части соединительным тканям. Однако для выделения продуктов распада, поглощения питательных веществ и газообмена им необходимы (тоже в весомых ко-

личествах) специализированные эпителиальные поверхности различного типа. Многие из них принимают форму трубчатых структур, образуемых в ходе *разветвляющегося морфогенеза* — когда при формировании сложного органа эпителий вторгается в зародышевую соединительную ткань (мезенхиму). Типичный пример такого рода мы наблюдаем в легком. Оно происходит из эндодермы, выстилающей дно полости передней кишки. Этот эпителий отпочковывается и прорастает в соседнюю мезенхиму, в итоге чего формируется *бронхиальное дерево* — система трубок, многократно ветвящихся по мере своего роста (рис. 22.92). Для создания же системы тесно сплетенных дыхательных путей и кровеносных сосудов, необходимой для осуществления газообмена в легком, в ту же мезенхиму вторгаются также эндотелиальные клетки — выстилающие клетки кровеносных сосудов (обсудим это подробнее в главе 23).

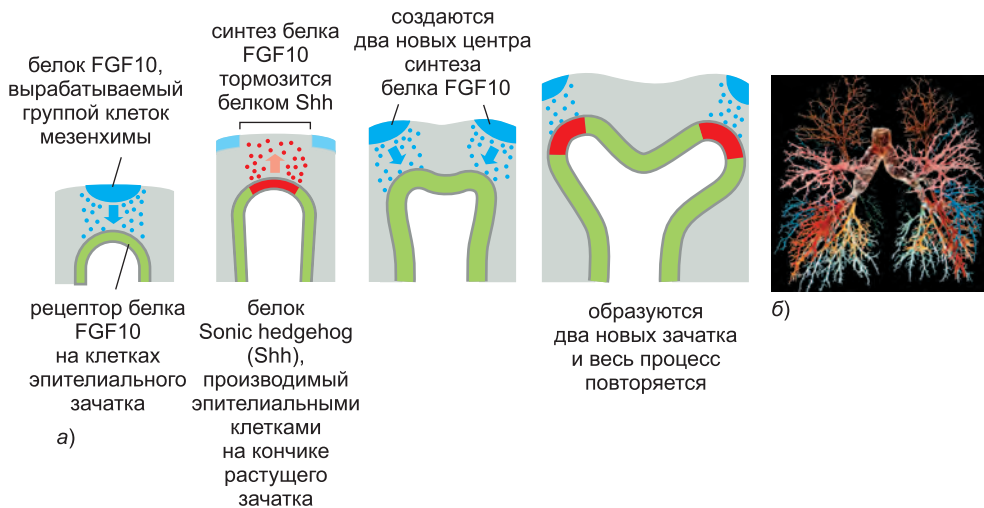


Рис. 22.92. Разветвляющийся морфогенез легкого. а) Гипотетическая модель роста и ветвления зачатков бронхиального дерева под действием белков FGF10 и Sonic hedgehog. В этой системе экспрессируются также и многие другие сигнальные молекулы, такие как BMP4, и предполагаемый механизм ветвления — лишь один из нескольких возможных вариантов. б) Слепок бронхиального дерева взрослого человека, приготовленный посредством введения в дыхательные пути эпоксидной смолы; в разные ветви дерева были введены смолы разных цветов. (Снимок б заимствован из R. Warwick and P. L. Williams, Gray's Anatomy, 35th ed. Edinburgh: Longman, 1973.)

В целом этот процесс зависит от двустороннего обмена сигналами между растущими зачатками эпителия и мезенхимой, в которую они внедряются. Эти сигналы можно проанализировать при помощи генетических манипуляций с мышами. Главную роль в этом процессе играют сигнальные белки из семейства факторов роста фибробластов (FGF) и семейства рецепторных тирозинкиназ, на которые они воздействуют. Этот сигнальный путь играет различные роли в развитии, но он, кажется, особенно важен во всех неисчислимых взаимодействиях между эпителием и мезенхимой.

Млекопитающие имеют около 20 разных генов *Fgf*, по сравнению с тремя у дрозофилы и двумя у *C. elegans*. Из группы генов *Fgf* в легком наиболее важную роль играет ген *Fgf10*. Он экспрессируется в группах клеток мезенхимы около кончиков растущих эпителиальных трубок, тогда как его рецептор экспрессируется в самих эпителиальных клетках. Белок FGF10 или его рецептор можно отключить при по-

мощи техники генетического нокаута (стандартными приемами, основанными на рекомбинации в ES клетках). В полученной нокаутной мутантной мышши нарушается весь процесс разветвляющего морфогенеза — первичный зачаток эпителия легкого все же формируется, но оказывается не в состоянии прорасти в мезенхиму и создать бронхиальное дерево. И наоборот, микроскопическая бусинка, вымоченная в белке FGF10 и помещенная около зародышевого эпителия легкого в культуре, побуждает зачаток сформироваться и расти в ее сторону. Вполне очевидно, что эпителий вторгается в мезенхиму только по приглашению, в ответ на сигнал от белка FGF10.

Но что заставляет растущие эпителиальные трубки многократно ветвиться по мере их инвазии? Кажется, это зависит от сигнала белка Sonic hedgehog, который посылается во встречном сигналу FGF10 направлении от эпителиальных клеток на кончиках зародышей обратно к мезенхиме. У мышши с отсутствием сигнала Sonic hedgehog эпителий легкого растет и дифференцируется, однако вместо ветвящегося дерева трубочек образует мешок. Тем временем сигнал FGF10, вместо того чтобы ограничиться малыми группами клеток мезенхимы (где каждая такая группа служит маяком, направляющим рост отдельного эпителиального зачатка), экспрессируется широкими полосами клеток, непосредственно примыкающих к эпителию. Это открытие наводит на мысль о том, что сигнал Sonic hedgehog может служить для того, чтобы отключать экспрессию сигнала FGF10 в клетках мезенхимы, наиболее близких к растущему кончику зачатка, в силу чего выделяющая сигнал FGF10 группа расщепляется на две отдельные группы, что, в свою очередь, вынуждает зачаток разветвиться надвое (см. рис. 22.92, *a*).

Ветвящийся рост эпителия и мезенхимы должен быть согласован с развитием сопряженных кровеносных сосудов, и весь этот процесс в целом вовлекает большое количество дополнительных сигналов. Многие звенья этой системы все еще остаются непонятными. Однако же достоверно известно, что дрозофила для управления разветвляющим морфогенезом своей трахеальной системы — трубочек, которые образуют дыхательные пути насекомого, — использует во многом подобный механизм. Аналогичным образом у мухи этот процесс зависит от белка FGF дрозофилы, кодируемого геном *Branchless*, и рецептора белка FGF дрозофилы, кодируемого геном *Breathless*, причем работа обоих белков плодовой мушки осуществляется так же, как и у мышши. И в самом деле, генетические исследования трахеального развития у дрозофилы выявили также и другие компоненты управляющего механизма, а гены плодовой мушки привели нас к их гомологам у позвоночных. Генетические манипуляции над мышшами дали нам возможность проверить, имеют ли эти гены подобные функции также и у млекопитающих; поразительно, что так оно и есть.

Заключение

Мышь завоевала место главного модельного организма в деле изучения молекулярной генетики развития млекопитающих. Развитие мышши во многом подобно развитию других позвоночных животных, но начинается с особой стадии, необходимой для формирования внезародышевых структур, таких как амнион и плацента. Для создания нокаутированных генов и других целенаправленных генетических видоизменений были изобретены мощные методы, опирающиеся на авторегуляторные свойства клеток внутренней клеточной массы мышшиного зародыша. Эти клетки можно поместить в культуру и растить в ней в виде эмбриональных стволовых клеток (ES клеток). При правильных условиях культивирования ES клетки могут неограниченно пролиферировать без диф-

ференцировки и сохранять способность давать начало любой части организма, если их вводят обратно в ранний зародыш мыши.

В ходе исследований на мышах было выявлено много общих процессов развития, включая и большинство из рассматриваемых нами в этой главе. В качестве одного лишь примера скажем, что мышца была использована для исследования механизма управления разветвляющимся морфогенезом. Этот процесс лежит в основе формирования таких структур организма, как легкие и железы, и управляется сигналами между клетками мезенхимы и прорастающим в нее эпителием. Функции этих сигналов могут быть проанализированы при помощи экспериментов с генетическими нокаутами.

22.8. Развитие нервной системы

Нервные клетки (нейроны) — одни из наиболее древних специализированных животных клеток. Их структура не походит на структуру клеток никакого другого класса, и развитие нервной системы ставит перед нами такие проблемы, которым не находится параллелей ни в каких других тканях. Нейрон необычен прежде всего своей чрезвычайно раскинувшейся во все стороны формой — длинным *аксоном* и ветвящимися *дендритами*, соединяющими его через синапсы с другими клетками (рис. 22.93). Главная загадка развития нервной ткани состоит в, казалось бы, необъяснимых событиях: от нейронов отрастают аксоны и дендриты, находят себе нужных партнеров, избирательно связываются с ними через синапсы и в конечном счете сплетаются в работоспособную сеть (рис. 22.94). Разгадать это таинство нелегко: мозг человека содержит более 10^{11} нейронов, каждый из которых в среднем должен установить связи с тысячей других, руководствуясь при этом стандартной, общей для всех и предсказуемой схемой коммутации. Требуемая точность не столь велика, как в рукотворном компьютере, поскольку мозг выполняет свои вычисления иным образом и более терпим к капризам в отдельных компонентах; но тем не менее по сложности своей организации мозг превосходит все остальные биологические структуры организма.

Компоненты типичной нервной системы — различные типы нейронов, глиальных клеток сенсорных и мышечных клеток — создаются в разных и далеко от-



Рис. 22.93. Типичный нейрон позвоночного животного. Стрелки указывают направление передачи сигналов. Представленный здесь нейрон выделен из сетчатки обезьяньего глаза. У человека самые длинные и крупные нейроны простираются приблизительно на 1 миллион мкм и характеризуются диаметром аксона около 15 мкм. (Рисунок нейрона заимствован из В. В. Boycott, in *Essays on the Nervous System* [R. Bellairs and E. G. Gray, eds.], Oxford, UK: Clarendon Press, 1974.)



Рис. 22.94. Сложная организация связей нервных клеток. Изображен срез малой части мозга млекопитающего — обонятельной луковицы собаки, окрашенный по методу Гольджи. Черные объекты — нейроны; тонкие линии — аксоны и дендриты, посредством которых разные группы нейронов связаны между собой по строгим правилам. (Изображение заимствовано из С. Golgi, *Riv. sper. freniat. Reggio-Emilia* 1: 405–425, 1875; воспроизведено в М. Jacobson, *Developmental Neurobiology*, 3rd ed. New York: Plenum, 1992.)

стоящих друг от друга частях тела зародыша, а потому изначально не связаны между собой никакими узлами. Таким образом, на первой стадии развития нервной системы (рис. 22.95) разные ее элементы развиваются согласно своим собственным местным программам: нейроны рождаются и наделяются индивидуальными характеристиками в соответствии с местом и временем их возникновения, под управлением индуктивных сигналов и регулирующих гены механизмов, таких как те, что мы уже обсуждали в контексте других тканей организма. На следующей стадии развития на первый план выходит морфогенез, свойственный исключительно нервной системе: от нейронов по определенным маршрутам отрастают аксоны и дендриты, которые для начала устанавливают предварительную, но уже упорядоченную сеть связей между отдельными частями системы. На третьей и заключительной стадии развития, которая незаметно перетекает во взрослую жизнь, установленные первичные связи выверяются и уточняются со ссылкой на активность взаимодействий между разбросанными по бескрайним просторам организма компонентами, то есть в зависимости от проходящих по ним электрических сигналов.

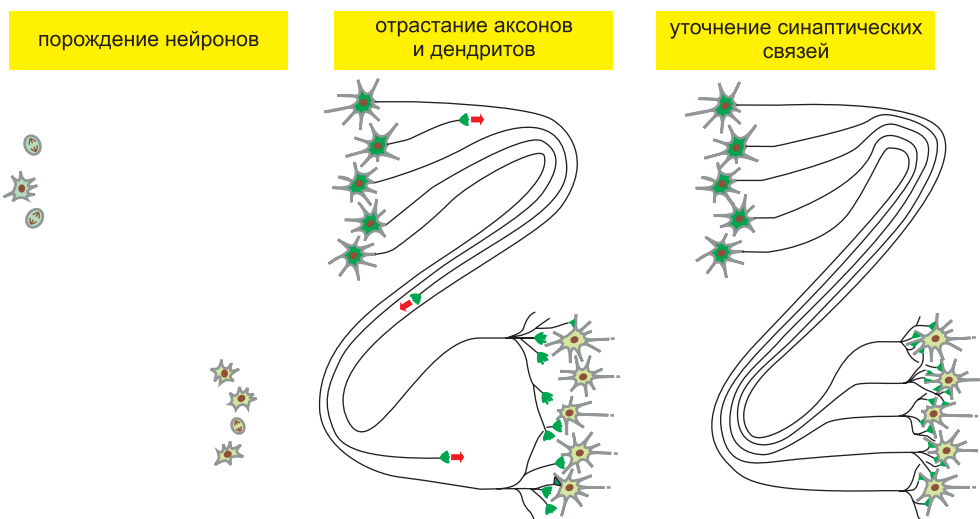


Рис. 22.95. Три стадии развития нервной системы.

22.8.1. Нейроны наделяются различными ролями, зависящими от времени и места их рождения

Нейроны почти всегда образуются в связке с **глиальными клетками**, которые служат им надежной опорой и создают для них замкнутую защитную среду, в которой нейроны могут успешно выполнять свои функции. У всех животных клетки обоих типов развиваются из эктодермы, обычно как сестринские клетки первого или второго поколения, созданные общим предшественником. Так, у позвоночных животных нейроны и глиальные клетки *центральной нервной системы* (включая спинной мозг, головной мозг и сетчатку глаза) происходят из той части эктодермы, которая свертывается и образует нервную трубку, тогда как клетки *периферической нервной системы* ведут свое начало главным образом из нервного гребня (**рис. 22.96**).

Нервная трубка, от которой мы будем в основном говорить, первоначально состоит из однослойного эпителия (**рис. 22.97**). Эпителиальные клетки являются предшественниками нейронов и глии. Когда образуются клетки этих типов, эпителий утолщается и преобразуется в более сложную структуру. Как мы обсуждали ранее, дифференцировкой клеток-предшественниц в нейроны управляет сигнальный путь Delta–Notch: новоявленные нейроны экспрессируют белок Delta и тем самым попутно тормозят своих соседей от дифференциации в нейроны. Такой механизм гарантирует, что предшественники не дифференцируются одновременно всем скопом, а сохраняют облик делящейся клеточной популяции, из которой могут возникнуть нейроны следующих поколений. Кроме того, предшественники, а позже и глиальные клетки поддерживают спаянность эпителия и образуют каркас, который пронизывает всю его толщину. Вдоль и между этими удлинненными клетками, подобно животным среди деревьев леса, новорожденные нейроны мигрируют, находят себе приют, созревают,

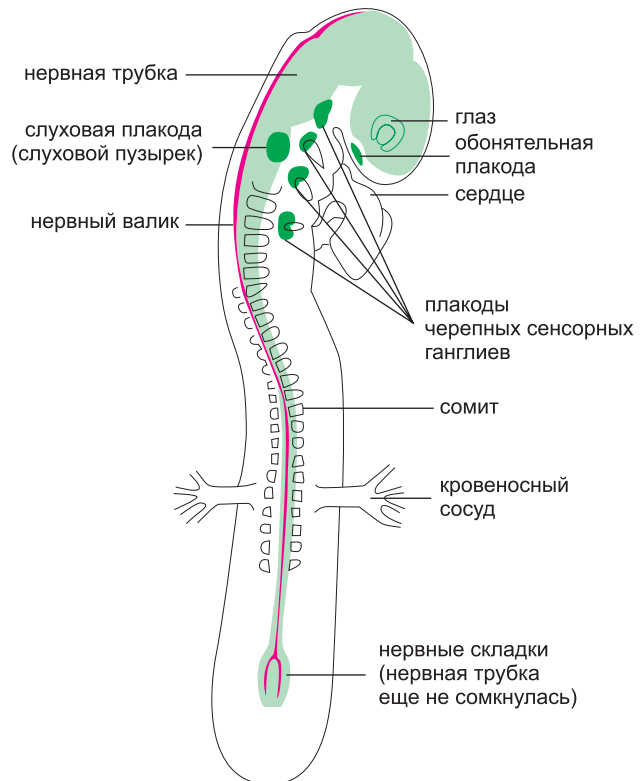


Рис. 22.96. Схема общего строения 2-дневного зародыша курицы, на которой показано происхождение нервной системы. Нервная трубка (светло-зеленая) уже сомкнулась (кроме хвостового конца) и пролегает внутри, под эктодермой, частью которой она первоначально была (см. рис. 22.78). Нервный гребень (красный) лежит со стороны спины непосредственно под эктодермой, в своде (или над ним) нервной трубки. Кроме того, утолщения, или плакоды (темно-зеленые), в эктодерме головы дают начало некоторым сенсорным передающим клеткам и нейронам этой области, включая клетки уха и носа. Клетки сетчатки глаза, напротив, имеют происхождение из нервной трубки.

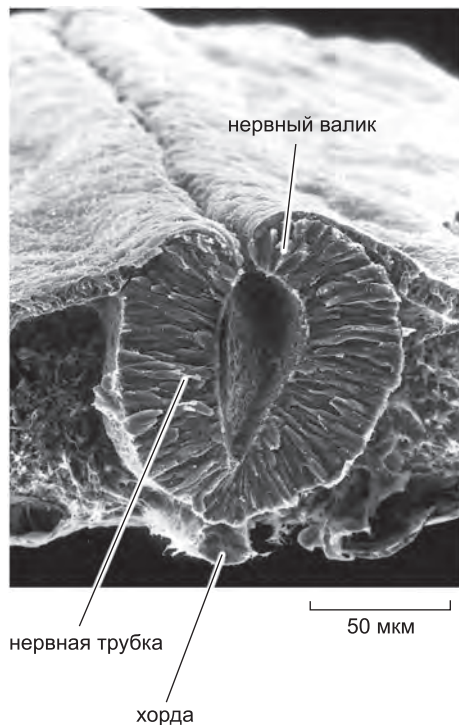


Рис. 22.97. Формирование нервной трубки. На растровом микрофотоснимке показан поперечный срез через тело 2-дневного зародыша курицы. Нервная трубка близка к смыканию и отслоению от эктодермы; на этой стадии она состоит (у курицы) из эпителия толщиной в один клеточный слой. (Снимок любезно предоставлен J. P. Revel и S. Brown.)

а затем выпускают свои аксоны и распускают дендриты (**рис. 22.98**).

Сигнальные белки, выделяемые из нервной трубки на вентральной и дорсальной ее сторонах, работают как противодействующие морфогены, в результате чего нейроны, рожденные на разных дорсо-вентральных уровнях, экспрессируют разные регуляторные белки (см. **рис. 22.80**). Наряду с этим, существуют различия и по оси голова-хвост, отражающие передне-заднюю картину экспрессии генов *Hox* и действие еще одной группы морфогенов. Более того, так же как и у дрозофилы, нейроны продолжают возникать во всех областях центральной нервной системы на протяжении многих дней, недель

или даже месяцев, и это дает начало еще большему разнообразию, потому что клетки получают разные свойства в соответствии с их «датой рождения» — времени последнего митоза, который отмечает начало дифференцировки нейрона (**рис. 22.99**). Когда клетки-предшественники берут из мозга эмбриона мыши и поддерживают в культуре в течение нескольких дней, они, по одиночке вырванные из привычной для них среды, проходят почти такую же программу, что и в неповрежденной ткани. То есть они многократно делятся и производят на свет пары дочерних клеток, которые часто избирают разные пути дифференцировки, так что одна остается делящейся предшественницей, а другая направляется на окончательную дифференцировку.

Из череды последовательных клеточных делений выходит последовательность нервных и глиальных клеток различных типов, сменяющих, друг друга по более или менее строгому расписанию. Это подразумевает, что сами клетки-предшественники, очевидно, самостоятельно изменяют свои внутренние свойства от одного поколения клеток к другому. Молекулярный механизм такого последовательного изменения неизвестен, как в данном случае, так и в отношении клеток других типов, с которыми происходят подобные неспешные изменения.

22.8.2. От типа, назначенного нейрону при его рождении, зависит, какие связи он будет образовывать

Различия в экспрессии генов модулируют характеры нейронов и помогают побуждать их устанавливать связи с разными партнерами. Например, в спинном мозге группы клеток, расположенные с вентральной стороны, экспрессируют гены из семейства гомеобокс-содержащих транскрипционных факторов *Islet/Lim*

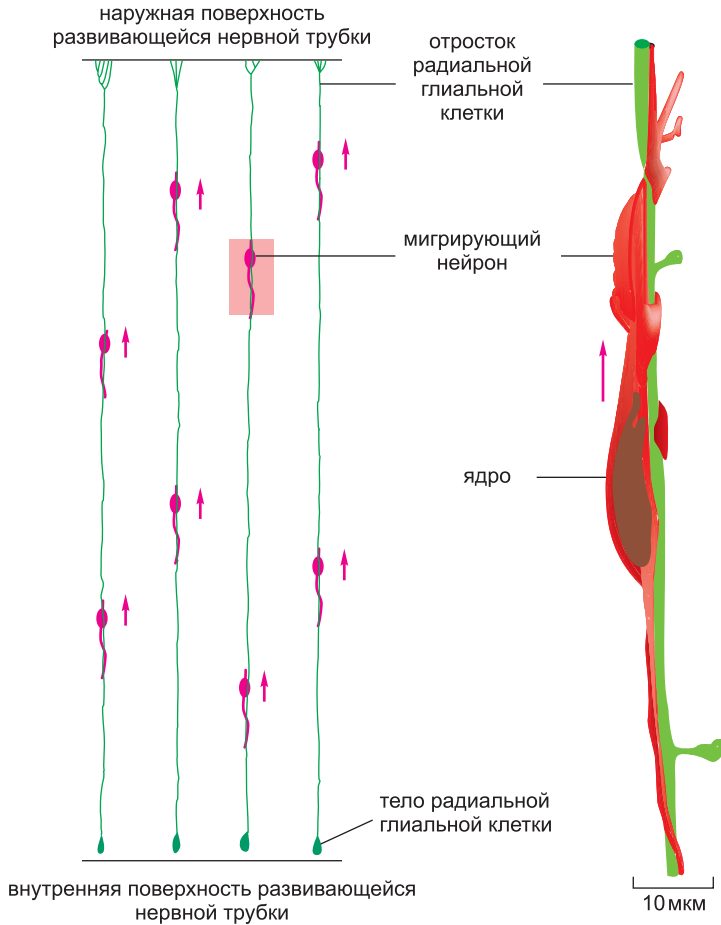


Рис. 22.98. Миграция незрелых нейронов. Нередко перед распусканием аксонов и дендритов новорожденные нейроны эмигрируют от места своего рождения и оседают в некотором другом месте. Представленные здесь схемы миграции основаны на реконструкциях со срезов коры головного мозга обезьяны (часть нервной трубки). Вблизи поверхности просвета нервной трубки нейроны проходят свое заключительное клеточное деление, после чего отползают наружу по радиальным глиальным клеткам. Каждая из таких клеток тянется от внутренней поверхности нервной трубки к внешней ее стороне, причем это расстояние (например, в коре развивающегося головного мозга примата) может достигать 2 см. Радиальные глиальные клетки можно рассматривать как сохранившиеся клетки первоначального столбчатого эпителия нервной трубки, которые по мере утолщения ее стенки вытягиваются на необычайную длину. (Переработано на основе P.Rakic, *J. Comp. Neurol.* 145: 61–84, 1972. С любезного разрешения издательства John Wiley & Sons, Inc.)

и развиваются как двигательные нейроны, протягивая аксоны для соединения с определенными подгруппами мышц — разными мышцами соответственно тому, какие конкретно члены семейства *Islet/Lim* экспрессируются. Если картина экспрессии генов искусственно изменяется, то нейроны выпускают отростки к иным исполнительным мышцам.

Разные конечные цели отражают разные варианты выбора пути, который аксоны делают, когда отрастают от тела нервной клетки, равно как и избирательное распозна-

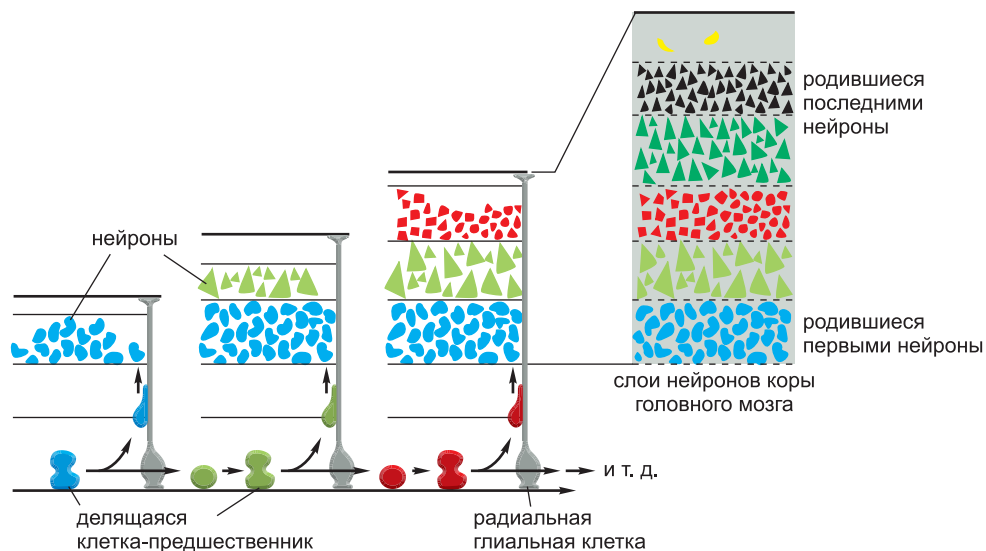


Рис. 22.99. Запрограммированное возникновение нейронов разных типов (каждый в свое время) делящимися предшественниками в коре головного мозга млекопитающего. Вблизи одной из поверхностей нейроэпителия коры головного мозга клетки-предшественники, подобно стволовым клеткам, многократно делятся и образуют нейроны. Нейроны мигрируют от своего «места рождения» к противоположной поверхности эпителия, передвигаясь по поверхностям радиальных глиальных клеток, как показано на рис. 22.98. Нейроны, родившиеся первыми, оседают наиболее близко к месту своего рождения, тогда как нейроны, рожденные позже, проползают мимо них и поселяются дальше, сразу за ними. Таким образом, нейроны следующих друг за другом поколений занимают в коре головного мозга разные слои и обладают разными индивидуальными свойствами, зависящими от времени их рождения.

вание ими разных клеток-мишеней в конце своего пути. В дорсальной части спинного мозга залегают нейроны, которые принимают и передают информацию от сенсорных нейронов с периферии тела. В промежуточных положениях стоят вставочные нейроны разных классов, связывающие определенные группы нервных клеток друг с другом. Одни нейроны тянут свои аксоны к спине, другие — к брюху, некоторые — к голове, иные — вниз, к хвосту, следующие — через основание нервной трубки — к другой стороне тела (рис. 22.100). В отснятом замедленной киносъемкой фильме, где развивающиеся нейроны окрашены флуоресцентным красителем, можно наблюдать движения растущих кончиков аксонов по мере их вытягивания: перед взором исследователя всплывает картина вечерних огней, когда потоки машин везут усталых людей с работы, автомобили мчатся по сети автострад, поворачивая на запруженных перекрестках направо или налево, и каждый водитель сам выбирает маршрут своего пути.

Но что управляет столь сложными движениями? Прежде чем подступиться к этому вопросу, необходимо окинуть структуру растущего нейрона чуть более пристальным взглядом.

22.8.3. Каждый аксон или дендрит удлиняется посредством конуса роста на своем кончике

Типичный нейрон выпускает один длинный аксон, тянущийся к отдаленной цели, к которой нужно передавать сигналы, и несколько более коротких дендритов,

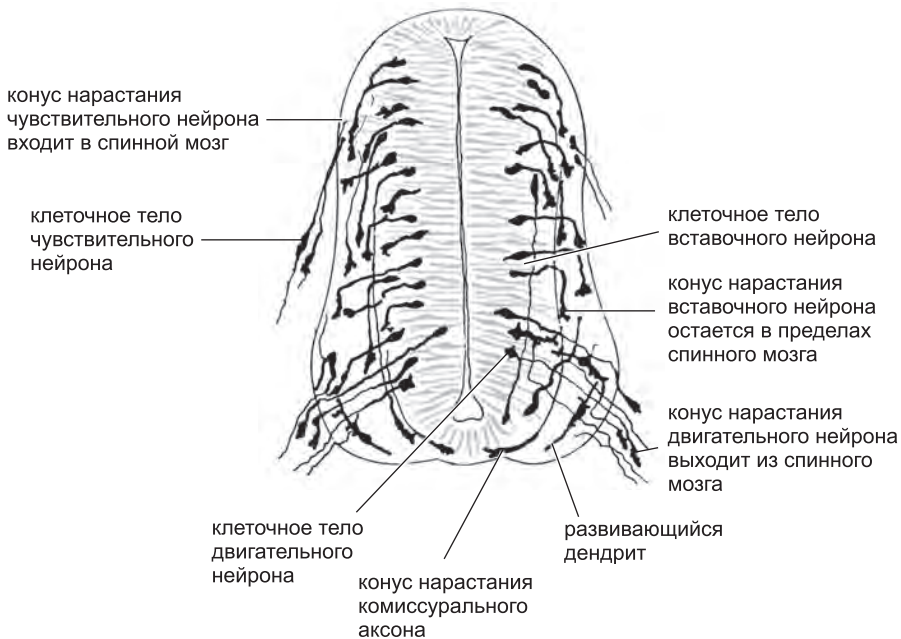


Рис. 22.100. Растущие аксоны в развивающемся спинном мозге 3-дневного зародыша курицы. На рисунке представлен поперечный срез, окрашенный по методу Гольджи. Как видно, на данный момент нейроны в большинстве своем имеют только по одному удлинненному отростку — будущему аксону. На растущем кончике каждого аксона заметно неправильной формы расширение — конус нарастания. Конусы нарастания двигательных нейронов выходят из спинного мозга (чтобы пробиться к мышцам), конусы сенсорных нейронов врастают в него извне (где лежат их клеточные тела), а конусы вставочных нейронов остаются в пределах спинного мозга. Многие из вставочных нейронов простирают свои аксоны вниз, к брюшной пластинке, чтобы перейти на другую сторону спинного мозга; эти аксоны называют комиссуральными. На столь ранней стадии развития зародыша многие из клеток его спинного мозга (в областях, затененных *серым*) все продолжают пролиферировать и еще не начали дифференцироваться на нейроны и глиальные клетки. (Рисунок заимствован из S. Ramón y Cajal, *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés*, 1909–1911. Paris: Maloine; reprinted, Madrid: C.S.I.C., 1972.)

на которые он в основном принимает входящие сигналы с окончаний аксонов других нейронов. Каждый отросток удлиняется за счет нарастания на своем кончике, где заметно остроконечное утолщение неправильной формы. Эта структура, названная **конусом нарастания**, продирается через окружающую ткань, оставляя за собой тонкий аксон или дендрит (см. рис. 22.100). Конус нарастания наделен и двигателем, который производит движение, и рулевым механизмом, который направляет кончик каждого отростка по надлежащему пути (см. рис. 16.105).

Львиная доля того, что нам известно о свойствах конусов нарастания, получена в ходе исследований на тканях или клеточных культурах. Можно наблюдать, как нейрон начинает давать свои отростки, сначала одинаковые, пока один из конусов нарастания неожиданным рывком не прибавляет скорости, отмечая тем самым свой отросток как аксон и обуславливая синтез присущей ему специфической для аксона группы белков (**рис. 22.101**). В установление контраста между аксоном и дендритом на этой стадии замешан поляризованный внутриклеточный перенос материалов,

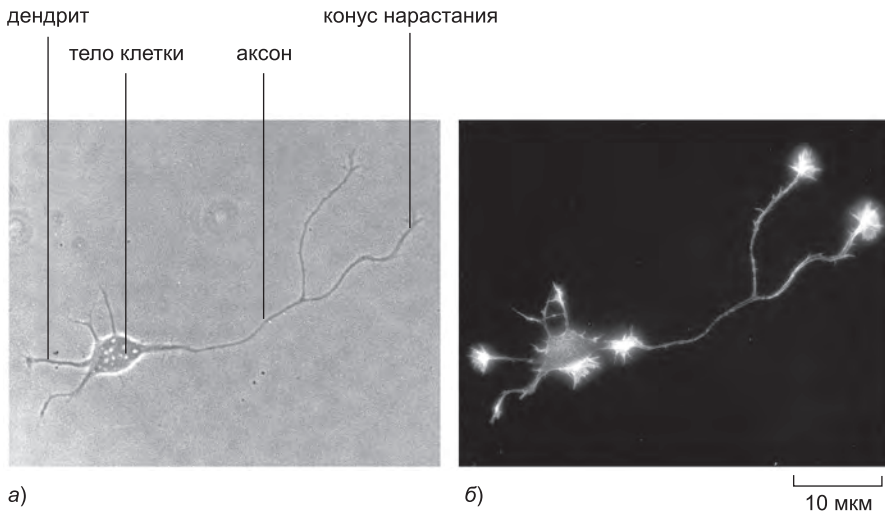


Рис. 22.101. Формирование аксона и дендритов в культуре. Молодой нейрон выделен из мозга млекопитающего и помещен для дальнейшего развития в культуру, где он выпускает отростки. Один из этих отростков, будущий аксон, начал отрастать быстрее, чем остальные (будущие дендриты), и разветвился. *а)* Изображение, полученное методом фазового контраста. *б)* Картина окрашивания флуоресцентным фаллоидином, который связывается с фибриллярным актином. Актин сосредоточен в активно отрастающих конусах нарастания на концах отростков, и в прочих участках, для которых также характерна активность ламеллиподий (плоских псевдоподий). (Снимки любезно предоставлены Kimberly Goslin.)

разных для отростков этих двух типов. В итоге они отрастут на разные расстояния, последуют разными путями и сыграют разные роли в формировании синапсов.

Конус нарастания на конце типичного растущего отростка нервной клетки — аксона или дендрита — продвигается вперед со скоростью приблизительно 1 мм в день, при этом он неустанно исследует области, что лежат впереди и с обеих сторон, выпуская филоподии и пластоножки. Когда такое выпячивание касается неблагоприятной поверхности, оно отходит назад; когда же оно встречает более благоприятную поверхность, оно удерживается на ней дольше и направляет продвижение всего конуса нарастания в этом направлении. Таким образом, конус нарастания может направляться на тот или иной путь за счет тонких изменений в поверхностных свойствах подложки, поверх которой он перемещается. В то же время он чувствителен к диффундирующим в окружающей его среде хемотаксисным факторам, которые тоже могут ускорить или замедлить его ход. Все эти особенности поведения конуса нарастания зависят от цитоскелетных механизмов внутри него, о которых мы упоминали в главе 16. Целое множество рецепторов в мембране конуса нарастания улавливает внешние сигналы и, при посредстве внутриклеточных регуляторов типа мономерных GTPаз Rho и Rac, управляет сборкой и разборкой актиновых нитей и других компонентов механизма клеточного движения.

22.8.4. Конус нарастания ведет развивающийся *in vivo* нейрит по точно заданному курсу

В организмах животных конусы нарастания обычно продвигаются к своим целям по предсказуемым, стереотипным маршрутам, руководствуясь множеством

разных стимулов, чтобы отыскать верный путь, но неизменно требуя субстрата в виде внеклеточного матрикса или клеточной поверхности, по которой они могли бы перемещаться. Зачастую конусы нарастания идут путем, уже проторенным другими нейритами, за которыми они следуют посредством контактного наведения. В результате такого караванного шествия нервные волокна в организме зрелого животного обычно сгруппированы в плотные параллельные тяжи (называемые нервными пучками или нервными путями). Само же передвижение конусов нарастания вдоль аксонов как думают, опосредствуется гомофильными молекулами межклеточной адгезии — мембранными гликопротеидами, которые помогают клетке, выставившей их на своей поверхности, приклеиться к любой другой клетке, которая также выставляет их напоказ. Как обсуждалось в главе 19, два наиболее важных класса таких молекул представлены членами надсемейства иммуноглобулинов, такими как N-CAM и членами семейства кальций-зависимых кадгеринов, такими как N-кадгерин. Члены обоих семейств обычно присутствуют на поверхности конусов нарастания, аксонов и клеток разных других типов, на которые напалзуют конусы нарастания, включая глиальные клетки центральной нервной системы и мышечные клетки на периферии тела. К примеру, в геноме человека имеются гены более 100 кадгеринов, и большинство из них экспрессируется в головном мозге (см. рис. 19.6). Разные наборы молекул межклеточной адгезии, работающие в различных комбинациях, обеспечивают механизм избирательного ведения нейритов и выборочного опознавания ими сред. Конусы нарастания мигрируют также и по компонентам внеклеточного матрикса. Одни молекулы матрикса, такие как *ламинин*, благоприятствуют отращиванию аксонов, тогда как другие, наподобие протеогликанов хондроитинсульфатов, препятствуют ему.

Конусы нарастания направляются к своим целям последовательностью разных стимулов на разных этапах своего маршрута, и при этом адгезивность субстрата отнюдь не является единственной вещью, которая имеет значение. Вторую важную роль играют хемотаксисные факторы, выделяемые из клеток, которые служат маяками в стратегических точках пути — одни привлекают, другие отталкивают. Траектория *комиссуральных* аксонов — тех, что переходят из одной стороны тела на другую, — служит изящным примером того, как комбинация наводящих сигналов может задавать сложный маршрут. Комиссуральные аксоны — общая особенность всех обладающих двусторонней симметрией животных, потому что обе стороны тела должны быть взаимно согласованы через нервную систему. Для управления ростом таких аксонов черви, мухи и позвоночные прибегают к весьма сходным механизмам.

Например, в развивающемся спинном мозге позвоночного животного большое число нейронов протягивает конусы нарастания своих аксонов в вентральном направлении, к вентральной пластинке — специализированной полосе клеток, образующей вентральную срединную линию нервной трубки (см. рис. 22.100). Такие конусы нарастания пересекают вентральную пластинку и затем резко поворачивают под прямым углом и следуют продольным путем к головному мозгу параллельно вентральной пластинке, но никогда снова не пересекают ее (рис. 22.102, *a*). Первый этап пути зависит от градиента концентрации белка *нетрина*, выделяемого клетками вентральной пластинки: комиссуральные конусы нарастания чувствуют свой путь к его источнику. Нетрин был выделен в чистом виде из зародышей курицы путем испытания вытяжки нервной ткани на активность, которая привлекала бы комиссуральные конусы нарастания в чашке для культивирования.

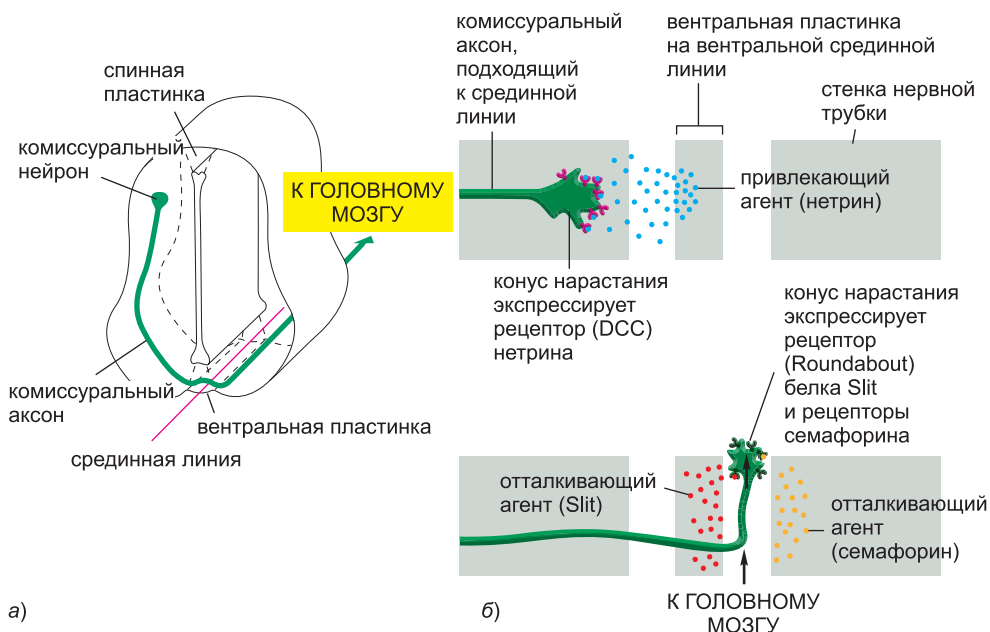


Рис. 22.102. Наведение комиссуральных аксонов. а) Путь, избираемый комиссуральными аксонами в спинном мозге зародыша позвоночного животного. б) Направляющие их сигналы. Конусы нарастания сначала привлекаются к вентральной пластинке нетрином, который выделяется клетками вентральной пластинки и воздействует на рецептор DCC в мембране аксона. Когда конусы нарастания пересекают вентральную пластинку, они посредством повышающей регуляции усиливают свою экспрессию белка Roundabout, рецептора отталкивающего белка Slit, который также выделяется вентральной пластинкой. Белок Slit, связываясь с рецепторным белком Roundabout, не только оказывает отталкивающее действие, препятствующее конусам повторно войти в вентральную пластинку, но также и блокирует их чувствительность к привлекающему агенту нетрину. В то же время конусы нарастания включают экспрессию рецепторов другого отталкивающего белка, семафорина, который выделяется клетками боковых стенок нервной трубки. Зажатые между двумя отталкивающими территориями конусы нарастания, пересекая срединную линию, тянутся плотным пучком к головному мозгу.

Его последовательность показала, что это — имеющийся у позвоночных гомолог белка, уже обнаруженного у *C. elegans* в ходе генетического скрининга мутантных червей с выросшими не туда аксонами, получивших название мутантов *Unc*, потому что аксоны у них продвигаются несогласованным (*uncoordinated*) образом. Один из генов *Unc*, а именно *Unc6*, кодирует гомолог нетрина. Другой, *Unc40*, кодирует его трансмембранный рецептор; он тоже имеет гомолога у позвоночных, который называется у них DCC, экспрессируется в комиссуральных нейронах и опосредствует их реакцию на градиент нетрина.

Местная активация рецептора DCC нетрином ведет к открытию в плазматической мембране ионных каналов специализированного класса. Эти каналы, названные каналами TRPC (переходный рецепторный потенциал C, transient receptor potential C), принадлежат к большому семейству (семейству TRP), представители которого отвечают также и за многие другие процессы передачи сенсорных сигналов: от механочувствительности до ощущения тепла и холода. Будучи открыты, эти каналы позволяют ионам Ca^{2+} (и другим катионам) проникать в клетку. Местное

повышение концентрации ионов Ca^{2+} , в свою очередь, активирует механизмы выпущения филоподий и продвижения конуса нарастания к источнику нетрина.

Таким образом, маршрут следования конуса нарастания определяют рецепторы на его поверхности: некомиссуральные нейроны нервной трубки, не имеющие рецепторов DCC, не привлекаются к брюшной пластинке, а нейроны, экспрессирующие иной рецептор нетрина — названный Unc5H у позвоночных животных (его аналог у червя — Unc5), — активно отталкиваются вентральной пластинкой и посылают свои аксоны не к ней, а к дорсальной пластинке.

22.8.5. Конусы нарастания обладают возможностью изменять свою чувствительность по мере прохождения избранного ими пути

Если комиссуральные конусы нарастания привлекаются к брюшной пластинке, то почему же они пересекают ее и выходят с другой стороны, вместо того чтобы оставаться на привлекательной для них территории? И почему, пересекая ее, они никогда снова не поворачивают к ней назад? Правдоподобный ответ кроется в другом наборе молекул, отдельные элементы которого также остались консервативными, а потому общими для позвоночных и беспозвоночных. Исследования мутантов дрозофилы со сбившимися с пути комиссуральными аксонами вначале позволили опознать три таких ключевых белка: Slit, Roundabout и Commissureless.

Белок Slit, подобно нетрину, вырабатывается клетками срединной линии развивающейся мухи, тогда как его рецептор Roundabout экспрессируется в комиссуральных нейронах. Белок Slit, воздействующий на рецептор Roundabout, оказывает воздействие, в точности противоположное действию нетрина: он отталкивает конусы нарастания, блокируя им вход на территорию срединной линии. Однако белок Commissureless мешает доставке рецептора Roundabout к клеточной поверхности и таким образом первоначально закрывает конусам нарастания глаза на этот сигнал «не подходи». В таком «незрячем» состоянии комиссуральные конусы нарастания продвигаются к срединной линии, а когда пересекают ее, они каким-то образом (хотя мы еще не понимаем, как именно) теряют нечувствительность к Slit, вызванную белком Commissureless и начинают отталкиваться от срединной линии. Выйдя с обратной стороны срединной линии, они несут функционально активный рецептор Roundabout на своих поверхностях и, таким образом, находятся под запретом на возвращение.

У позвоночных животных работает подобный механизм, вовлекающий гомологов белков Slit и Roundabout. Комиссуральные конусы нарастания сначала привлекаются к срединной линии, а затем как-то изменяют свои белки-рецепторы клеточной поверхности, когда пересекают ее; тем самым они переключают свою восприимчивость, усиливая чувствительность к отталкиванию белком Slit, который экспрессируется в вентральной пластинке, и теряя чувствительность к привлечению нетрином. При первоначальном приближении конусов к срединной линии их чувствительность к белку Slit блокируется не любым гомологом Commissureless, а членом семейства рецепторов Roundabout, называемым Rig1, который сидит в плазматической мембране и мешает приему сигналов его «кузенами». Как только конусы нарастания пересекут срединную линию, такая блокировка белком Rig1 выключается каким-то неизвестным механизмом. Теперь отталкивание от срединной линии не дает конусам нарастания отклониться назад и вновь ее пересечь. В то же время конусы нарастания, что очевидно, становятся чувствительными к другому набору отталкивающих сигналов в форме белков, названных семафоринами, это

препятствует им снова войти в области спинного мозга со стороны спины. Зажатый между этими двумя наборами отталкивающих сигналов конусам нарастания не остается ничего иного, как продвигаться по узенькой тропке, идя параллельно вентральной пластинке, но никогда не входя в нее снова (рис. 22.102, б).

22.8.6. Ткани-мишени выделяют нейротрофические факторы, которые управляют ростом и выживанием нервных клеток

В конечном счете конусы нарастания аксонов достигают ткани-мишени, где им надлежит остановиться и наладить синапсы. Теперь нейроны, которые выпустили эти аксоны, могут установить связь со своими целевыми клетками. Хотя синапсы, вообще-то, передают сигналы в одном направлении — от аксона к дендриту или мышце, в ходе развития каналы связи имеют двусторонний характер. Сигналы от ткани-мишени не только определяют, где какой конус нарастания должен создать синапсы (что мы обсудим ниже), но также и определяют, сколько иннервирующих нейронов из числа новоприбывших выживет.

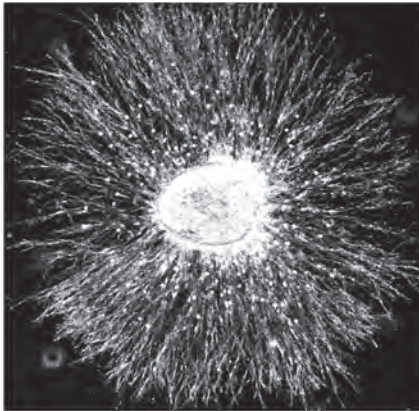
В центральной и периферической нервной системе позвоночного нейроны большинства типов производятся в избытке; впоследствии до 50% и более нейронов умирает вскоре после того, как достигнет своей цели; даже при том, что до момента гибели все они выглядят совершенно нормальными и здоровыми. Например, примерно половина всех двигательных нейронов, которые простирают аксоны к скелетным мышцам, умирает в течение нескольких дней после установления контакта со своими мышечными клетками-мишенями. Такая же доля сенсорных нейронов, иннервирующих кожу, умирает после того, как их конусы нарастания достигнут ее.

Такая массовая гибель нейронов, как считают, отражает исход конкуренции. Клетки-мишени всех типов выпускают ограниченное количество специфического нейротрофического фактора, который необходим нейронам, иннервирующим эти клетки, для выживания. Нейроны явно конкурируют за этот фактор, и те, которые не получают его в достаточной мере, умирают путем запрограммированной клеточной смерти. Если количество иннервируемой ткани увеличивается — например, за счет пересадки на соответствующую сторону зародыша дополнительного зачатка конечности, — то выживает больше иннервирующих конечности нейронов, и наоборот, если зачаток конечности отрезан, то все иннервирующие ее нейроны умирают. Таким образом, хотя разные индивидуумы и отличаются пропорциями своего тела, они всегда сохраняют при себе нужное число двигательных нейронов, достаточное для иннервации всех их мышц, и необходимое число сенсорных нейронов, которых хватит на иннервацию всей поверхности их тела. И такая явно расточительная стратегия перепроизводства, сопровождаемого смертью излишних клеток, работает практически во всех отделах нервной системы! Она служит простым и эффективным средством установления соответствия между количеством иннервирующих нейронов и объемом ткани, требующей иннервации.

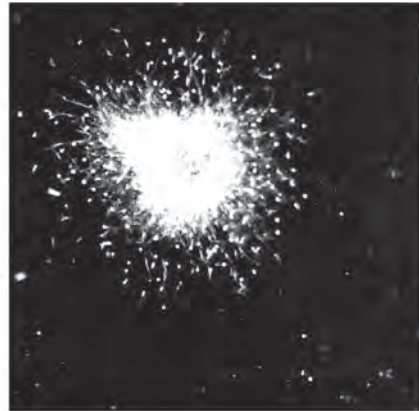
Первый из описанных нейротрофических факторов, который до сих пор остается наиболее полно охарактеризованным, известен под названием фактора роста нервов (ФРН, NGF). Он представляет собой типичный член семейства сигнальных белков *нейротрофинов* и способствует выживанию сенсорных нейронов определенных классов, происходящих из нервного гребня, а также симпатических нейронов (подкласс периферических нейронов, которые управляют сокращениями гладких мышц и выделениями желез внешней секреции). ФРН производится тканями, которые иннервируются этими нейронами. Когда в среде имеется

«лишний» ФРН, выживают дополнительные сенсорные и симпатические нейроны, как если бы рядом находилась добавочная ткань-мишень. И наоборот, у мыши с мутацией, в результате которой нокаутируется ген белка ФРН или его рецептора (трансмембранной тирозинкиназы TgkA), пропадают почти все зависимые от ФРН симпатические и сенсорные нейроны. Существует много нейротрофических факторов и лишь несколько из них принадлежат к семейству нейротрофинов; при этом, решая задачу обеспечения выживания нейронов разных классов, они работают в различных сочетаниях.

ФРН и родственные ему факторы играют еще одну, дополнительную роль: наряду с воздействием на нервную клетку в целом, чтобы управлять ее выживанием, они регулируют направленный рост аксонов и дендритов (рис. 22.103). Они могут даже оказывать местное действие только на одну часть дерева отростков нервной клетки, поощряя или угнетая рост отдельных ветвей: конус нарастания, подвергнутый действию ФРН, показывает незамедлительное увеличение подвижности. Напротив, ответвление аксона, лишённое действия ФРН (тогда как остальная часть нейрона продолжает оставаться в зоне действия этого фактора), отмирает.



среда с ФРН



контрольная среда

Рис. 22.103. Фактор роста нервов (ФРН) воздействует на рост нейритов. Темнопольные микрофотографии симпатического ганглия, культивируемого в течение 48 часов с (слева) или без (справа) ФРН. Нейриты отрастают от симпатических нейронов только в том случае, если в среде присутствует ФРН. Каждая культура содержит также шванновские (глиальные) клетки, которые мигрировали в стороны от этого нервного узла; на них ФРН не действует. Выживание нейронов и поддержание конусов нарастания для вытягивания нейритов представляют собой два разных эффекта ФРН. Воздействие на конусы нарастания носит местный характер, является прямым, быстрым и не зависит от обмена сигналами с телом клетки; когда ФРН удален из среды, лишившиеся его конусы нарастания приостанавливают свое движение на одну или две минуты. Воздействие ФРН на выживание клеток не столь непосредственно и связано с поглощением ФРН через эндоцитоз и его внутриклеточный транспорт назад к телу клетки. (Снимки любезно предоставлены Naomi Kleitman.)

Периферическое действие ФРН продолжает оставаться важным и после стадии смерти нейронов. Например, в коже он управляет ветвлением чувствительных нервных волокон, гарантируя не только иннервацию всей поверхности тела за время развития, но также и обеспечивая восстановление ее иннервации после повреждения.

22.8.7. Специфичность нейронов лежит в основе формирования упорядоченных нейронных карт

Во многих случаях аксоны, отрастающие от нейронов одного типа, но расположенных в разных положениях, объединяются для совместного пути и достигают своей цели в виде плотного пучка. Там они вновь рассеиваются и завершают свой путь на разных участках ткани-мишени.

Отрастание аксонов от глаза к мозгу служит важным примером этого. Нейроны в сетчатке глаза, которые передают зрительную информацию назад к головному мозгу, называют *ганглионарными клетками сетчатки*. Их существует более миллиона и каждая передает информацию о своей собственной части поля зрения. Аксоны этих нейронов сходятся на слепом пятне сетчатки в задней части глаза и идут вместе по зрительному нерву в мозг. У большинства позвоночных (кроме млекопитающих) их основным конечным участком является *зрительный бугор* — широкое утолщение клеток в среднем мозге. При соединении с нейронами бугра аксоны ганглионарных клеток сетчатки распределяются в соответствии с предсказуемой картиной, соответствующей расположению их клеточных тел в сетчатке: ганглионарные клетки, расположенные в сетчатке по соседству, соединяются с нейронами, которые соседствуют в зрительном бугре. В силу такой упорядоченной организации отростков в зрительном бугре создается **карта** зрительного пространства (**рис. 22.104**).

Упорядоченные карты такого рода встречаются во многих областях мозга. Например, нейроны слуховой системы выпускают отростки от уха к мозгу в тонально-топическом порядке, создавая карту, в которой клетки головного мозга, получающие информацию о звуках разной высоты, расположены по одной линии словно клавиши фортепьяно. А в соматосенсорной системе нейроны, передающие информацию с осязательной карты тела в кору головного мозга, образуют «гомун-



Рис. 22.104. Карта нейронов, идущих от глаз молодого данлио рерио к его головному мозгу. *а)* Схематическое представление головы малька, вид сверху. *б)* Флюоресцентный микрофотоснимок. В оба глаза введены флюоресцентные индикаторные красители: *красный* в переднюю часть, *зеленый* — в заднюю. Индикаторные молекулы поглощены нейронами сетчатки и увлечены по их аксонам, благодаря чему проявились пути, которыми они следуют к зрительному бугру в головном мозге, и карта, которую они там формируют. (Изображения любезно предоставлены Chi-Bin Chien и взяты из D. H. Sanes, T. A. Reh and W. A. Harris, *Development of the Nervous System*. San Diego, CA: Academic Press, 2000.)

кула» («человека Пенфилда») — маленькую, искаженную, двумерную проекцию поверхности тела и его органов (рис. 22.105).

Из всех этих карт лучше всего охарактеризована ретинотопическая карта поля зрения в зрительном бугре. Как она образуется? В принципе, конусы нарастания могли бы физически направляться к разным конечным пунктам вследствие их разных стартовых положений, подобно водителям на шоссе с многорядным движением, где запрещено перестраиваться на соседние полосы. Такая возможность проверена в контексте зрительной системы в ходе известного эксперимента, проведенного в 1940-е гг. Если зрительный нерв лягушки перерезать, то он восстановится. Аксоны ганглионарных клеток сетчатки отрастают назад к зрительному бугру, возвращая лягушке нормальное зрение. Если, кроме того, наряду с перерезанием нерва, глаз поворачивают в глазнице, так что изначально нижние клетки сетчатки становятся верхними, то зрение опять же восстанавливается, но отличается весьма неудоб-

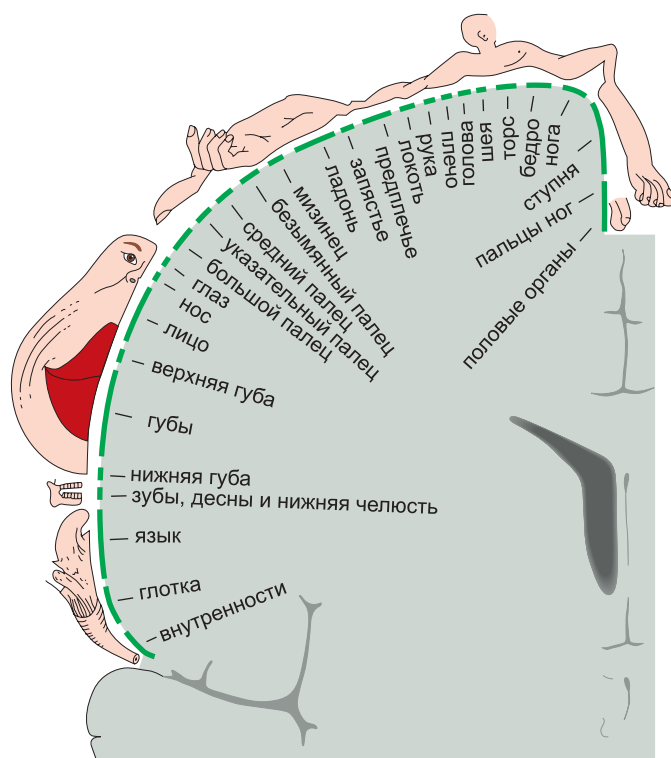


Рис. 22.105. Карта поверхности тела, отображенная в коре головного мозга человека. Через упорядоченную систему связей между нервными клетками поверхность тела отображается на соматосенсорную область коры головного мозга, так что чувственная информация от соседних участков тела передается на соседние же участки в мозге. Это означает, что нарисованная в мозгу карта в значительной степени отвечает топологии поверхности тела, даже притом, что различные области тела нанесены на нее в разном масштабе (в зависимости от плотности их иннервации). Например, этот гомункул («человечек» в мозгу) имеет большие губы, потому что наши губы — особенно большой и важный источник чувственной информации. Такая карта была составлена путем стимуляции разных точек в коре головного мозга у находящихся в сознании пациентов во время операции на мозге и записи их ответов относительно того, что именно они чувствуют. (Данная карта построена на основе книги W. Penfield and T. Rasmussen, *The Cerebral Cortex of Man*. New York: Macmillan, 1950.)

ным изъяном: животное ведет себя так, словно оно видит мир вверх тормашками и перевернутым справа налево. Это связано с тем, что поставленные не на свое место клетки сетчатки образуют соединения в соответствии со своими исходными, а не экспериментальными положениями. Кажется, что клетки обладают позиционными значениями — специфическими к конкретным положениям биохимическими особенностями, которые служат знаками для записи их первоначального местоположения. В результате клетки на противоположных сторонах сетчатки внутренне различны — точно так же, как двигательные нейроны спинного мозга, которые пускают отростки к разным мышцам, внутренне отличаются друг от друга.

Такая неэквивалентность среди нейронов носит название *специфичность нейронов*. Именно эта внутренняя характеристика и направляет аксоны из сетчатки к соответствующим им нейронам-мишеням в зрительном бугре. Сами же нейроны-мишени различаются аксонами ганглионарных клеток потому, что клетки зрительного бугра также несут позиционные метки. Таким образом, нейронная карта зависит от соответствия между двумя системами позиционных маркеров: одной — в сетчатке глаза и другой — в зрительном бугре.

22.8.8. Аксоны, идущие от разных областей сетчатки, по-разному реагируют на градиент концентрации отталкивающих молекул в зрительном бугре

Аксоны от околоносовой части сетчатки (на стороне, ближайшей к носу) растут к задней области зрительного бугра, аксоны от височной области сетчатки (на стороне, наиболее удаленной от носа) растут к передней области зрительного бугра, аксоны от промежуточных областей сетчатки отрастают к промежуточным областям зрительного бугра. Когда в чашке для культивирования околоносовым и височным аксонам позволяют прорасти через мембрану передней или задней областей зрительного бугра, они также показывают избирательность (**рис. 22.106**). Височные аксоны решительно предпочитают передние мембраны зрительного бугра (как и *in vivo*), тогда как околоносовые аксоны (в зависимости от вида животного) или предпочитают задние мембраны зрительного бугра, или не показывают никакого предпочтения. Ключевое различие между передней и задней областями зрительного бугра, кажется, состоит в отталкивающем факторе на задней мембране зрительного бугра, к которому височные сетчаточные аксоны чувствительны, а носовые сетчаточные аксоны — нет: если височный сетчаточный конус нарастания прикасается к задней мембране зрительного бугра, то он съедает свои филоподии и отходит назад.

В ходе проводимых *in vitro* опытов, основанных на этих явлениях, были выявлены некоторые из отвечающих за этот процесс молекул. Отталкивающий фактор на задней мембране зрительного бугра, кажется, частично или полностью состоит из белков *ephrinA* — подгруппы семейства сопряженных с GPI белков, которые служат лигандами представителей семейства рецепторных тирозинкиназ *EphA*. У мыши экспрессируются два разных эфрина, которые образуют передне-задний градиент по клеткам зрительного бугра. Передние клетки вырабатывают мало эфрина или вообще нисколько, клетки в центре зрительного бугра экспрессируют эфрин A2, а клетки по заднему краю зрительного бугра экспрессируют эфрин A2 и эфрин A5. Таким образом, существует градиент экспрессии эфринов вдоль зрительного бугра. Тем временем входящие в него аксоны экспрессируют рецепторы Eph, причем тоже

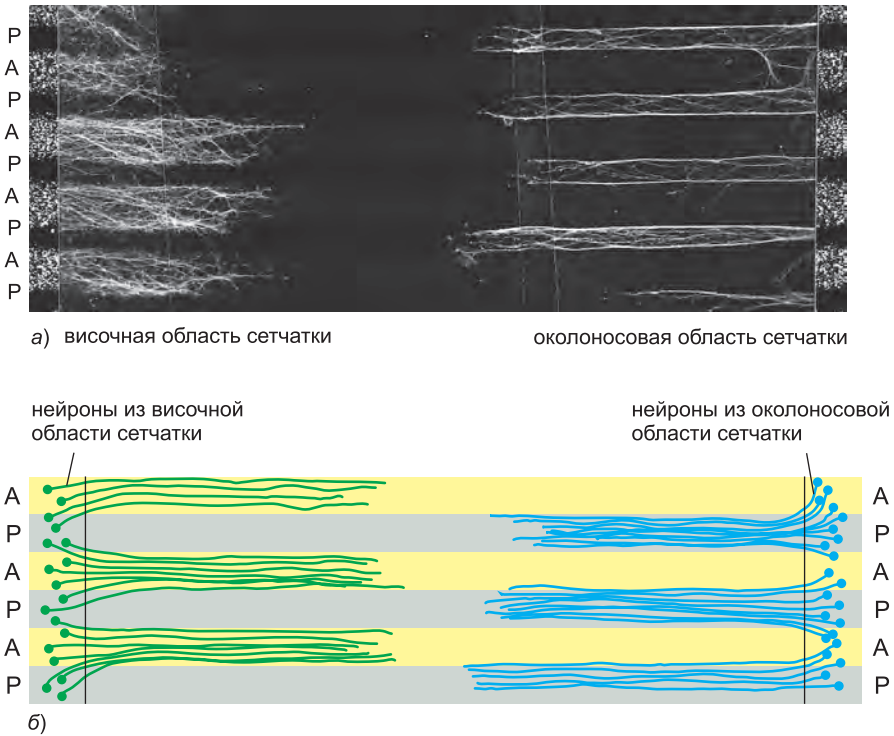


Рис. 22.106. Избирательность аксонов сетчатки, прорастающих сквозь мембрану зрительного бугра. а) Фотография экспериментального наблюдения. б) Схема происходящего. Культуральный субстрат покрыт чередующимися полосами мембран, приготовленных из задней (Р) и из передней областей зрительного бугра (А). На фотографии полосы из передней области зрительного бугра проявлены за счет их окраски флуоресцентным маркером по вертикальным полоскам, размещенным по сторонам картинке. Аксоны нейронов из височной половины сетчатки (растущие к середине с левой стороны) следуют по полосам передней мембраны зрительного бугра, но избегают задней мембраны зрительного бугра, тогда как аксоны нейронов из носовой половины сетчатки (растущие к середине с правой стороны) поступают наоборот. Таким образом, передняя область зрительного бугра отличается от задней его области и носовая область сетчатки — от височной ее области, и эти различия обуславливают избирательное отрастание аксонов. Эти эксперименты проведены над клетками зародыша курицы. (Изображения заимствованы из Y. von Bohmer, S. Deiss and U. Schwarz, *Neuron* 10: 345–357, 1993. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

по градиенту: височные аксоны экспрессируют рецепторы Eph на высоком уровне, что делает их чувствительными к отталкиванию белком ephrinA, тогда как носовые аксоны экспрессируют рецепторы Eph на низком уровне. Подобным же образом по другой главной оси бугра, от срединной области к боковой, происходит распределенная градиентом экспрессия белка ephrinB, а также сигнальной молекулы другого типа, Wnt3, и соответствующая градиентная экспрессия рецепторов EphB и рецепторов сигнала Wnt по дорсально-вентральной оси сетчатки глаза.

Данной системы сигналов и рецепторов будет достаточно, чтобы создать упорядоченную двумерную карту, если мы сделаем одно дальнейшее допущение — допущение, подтверждаемое экспериментами *in vivo*: о том, что аксоны сетчатки как-то взаимодействуют друг с другом и конкурируют за территорию зрительного бугра. Так, височные аксоны ограничиваются передней областью зрительного бугра

и отводят от нее околоносовые аксоны; околоносовые аксоны, со своей стороны, ограничиваются задней областью зрительного бугра. В конце концов между этими крайностями устанавливается равновесие, что позволяет противоборствующим сторонам найти компромисс — плавное отображение височно-носовой оси сетчатки на передне-заднюю ось зрительного бугра.

22.8.9. Диффузная конфигурация синаптических связей приобретает более резкие очертания за счет перестройки синапсов

У нормального животного ретино-тектальная карта первоначально расплывчата и неточна: система взаимно соответствующих маркеров, которую мы только что описали, достаточна для того, чтобы в общих чертах наметить контуры такой карты, но не достаточна, чтобы обозначить отдельные ее мелкие детали. Исследования на лягушках и рыбах показывают, что каждый сетчаточный аксон вначале широко ветвится в зрительном бугре и устанавливает обилие синапсов, распределенных по обширной территории зрительного бугра, которая перекрывается с зоной иннервации других аксонов. Впоследствии эти территории урезаются путем избирательного удаления синапсов и отвода аксоновых ветвей. Это сопровождается формированием новых ответвлений, через которые каждый аксон развивает более плотную сеть синапсов на территории, которую он сохраняет за собой.

Подобная перепланировка и уточнение карты опираются на два ключевых правила соревнования, которые вместе способствуют наведению полного пространственного порядка: 1) аксоны из разных и отдаленных друг от друга областей сетчатки, которые, как правило, возбуждаются в разное время, конкурируют за господство над свободной территорией зрительного бугра; 2) аксоны из соседних участков сетчатки, которые ввиду этого возбуждаются в одно и то же время, иннервируют соседние территории зрительного бугра, потому как они сотрудничают в деле сохранения и укрепления своих синапсов на обобщественных клетках зрительного бугра (рис. 22.107). Механизм, лежащий в основе этих двух правил, зависит от электрической активности и плотности потока сигналов в тех синапсах, которые уже сформированы. Если все биоэлектрические потенциалы блокированы неким токсином, который связывается с управляемыми напряжением каналами Na^+ , то перестройка синапсов тормозится и карта остается нечеткой.

Явление зависимого от электрической активности удаления синапсов встречается почти во всех частях развивающейся нервной системы позвоночного. Сначала синапсы образуются в изобилии и распределяются по обширному полю назначения; затем система связей урезается и перестраивается за счет конкурирующих процессов, которые зависят от электрической активности и потока синаптических сигналов. Удаление синапсов таким способом отличается от устранения избыточных нейронов средствами запрограммированной смерти клетки и происходит после того, как период нормальной гибели нейронов завершен.

Большая часть наших знаний о клеточных механизмах образования и удаления синапсов получена в ходе экспериментов с иннервацией скелетной мышцы у зародышей позвоночных. Первичным образованием синапсов управляет двусторонний обмен сигналами между нервными окончаниями аксона и мышечными клетками. На участках соединения, в мембране мышечной клетки группируются рецепторы ацетилхолина, и на окончаниях аксона организуется аппарат выделения этого нейротрансмиттера (как помнится, мы обсуждали этот любопытный момент в главе 11). Вначале каждая мышечная клетка получает синапсы от нескольких нейронов, од-

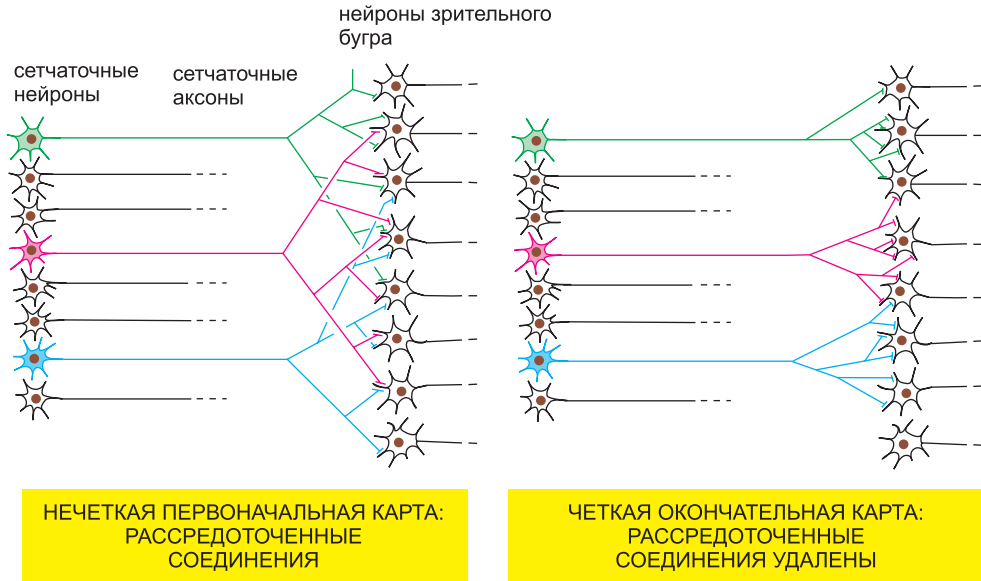


Рис. 22.107. Повышение резкости ретино-тектальной карты посредством удаления синапсов. Вначале эта карта бывает нечеткой, потому что каждый сетчаточный аксон обильно ветвится и иннервирует обширную область зрительного бугра, перекрывающую области, иннервируемые другими аксонами сетчатки. Впоследствии такая первичная карта уточняется посредством удаления синапсов. Там, где аксоны из разных и удаленных друг от друга частей сетчатки образуют синапс с одной и той же клеткой зрительного бугра, происходит конкуренция и связи, наведенные одним из аксонов, удаляются. Напротив, аксоны от клеток, которые дружно соседствуют в сетчатке, сотрудничают, поддерживая свои синапсы на совместно опекаемых клетках зрительного бугра. Таким образом, каждый аксон сетчатки заканчивает свою миссию, иннервируя маленькую территорию зрительного бугра, примыкающую (и частично перекрывающуюся с ней) к территории, иннервируемой аксонами из соседних участков сетчатки.

нако потом, в ходе процесса, который обычно занимает пару недель, она остается иннервированной только одним нейроном. Деградация синапса опять же зависит от активности синаптической связи: если передача возбуждения по синапсу блокирована каким-либо токсином, который связывается с рецепторами ацетилхолина в мембране мышечной клетки, то мышечная клетка сохраняет свою множественную иннервацию дольше нормального периода устранения таковой.

Эксперименты с опорно-двигательным аппаратом, а также над ретино-тектальной системой позволяют предположить, что далеко не только степень электрической активности в синапсе является важной для его поддержания, но также и ее согласование по времени. Усиливается ли синапс или ослабляется, кажется, определяющим образом зависит от того, синхронизирована ли активность в пресинаптической клетке с активностью других пресинаптических клеток, установивших синапсы на эту же клетку-мишень (и, значит, от того, синхронизирована ли она тем самым также и с активностью самой клетки-мишени).

Эти и многие другие открытия предложили простую интерпретацию правил конкуренции для удаления синапсов в ретино-тектальной системе (рис. 22.108). Аксоны из разных частей сетчатки возбуждаются в разное время и тем самым конкурируют. Каждый раз, когда один из них возбуждается, один или несколько

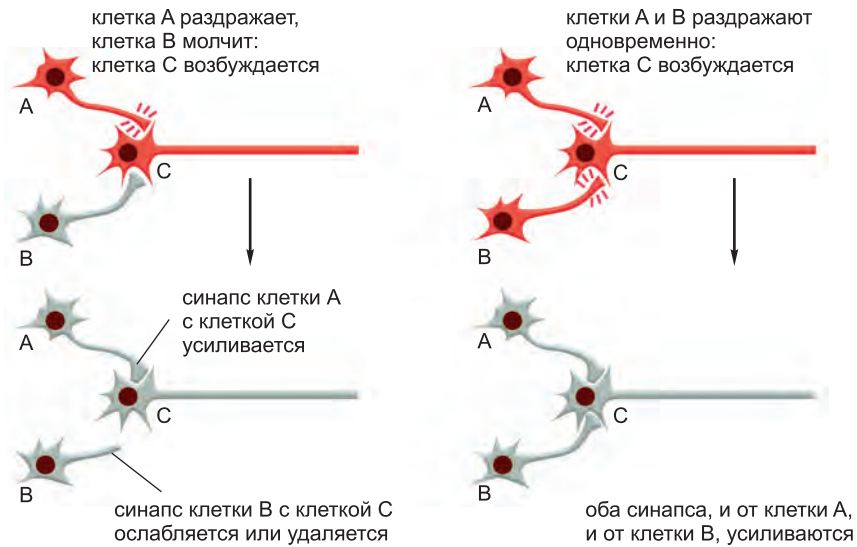


Рис. 22.108. Модификация синапсов и ее зависимость от электрической активности. Эксперименты с несколькими системами показывают, что в зависимости от своей электрической активности синапсы упрочивают или ослабляют занятые позиции согласно правилу, представленному на схеме. Это правило, видимо, состоит в том, что при каждом очередном возбуждении клетки-мишени любой синапс, в котором предсинаптическое окончание аксона только что было неактивным, обычно ослабляется, а любой синапс, в котором предсинаптическое окончание аксона только что было активным, усиливается. В результате «нейроны, которые совместно возбуждают, совместно же и побеждают». Синапс, который раз за разом ослабляется и лишь изредка усиливается, в конечном счете и вовсе устраняется за ненадобностью.

синапсов от другого аксона на общей клетке-мишени зрительного бугра ослабляется, пока один из аксонов не останется единственным партнером этой клетки. С другой стороны, аксоны от соседних клеток сетчатки, как правило, возбуждаются синхронно друг с другом: поэтому они не конкурируют, но, вместо этого, поддерживают синапсы на общих клетках зрительного бугра, в результате чего выстраивается точная упорядоченная карта, в соответствии с которой соседние клетки сетчатки прорастают в соседствующие же участки зрительного бугра.

22.8.10. Опыт формирует в мозгу конфигурацию синаптических связей

Явление, которое мы только что описали, выражается выражением «вместе возбуждаем — вместе побеждаем». То же самое правило возбуждения, связывающее поддержание синапса с нервной активностью, помогает организовывать наш развивающийся головной мозг в контексте опыта и научения.

В мозгу млекопитающего аксоны, передающие входы от двух глаз, сходятся в специальном клеточном слое в зрительной области коры головного мозга. Здесь они образуют две перекрывающиеся карты внешнего поля зрения: одну — воспринимаемую правым глазом, другую — воспринимаемую левым. Хотя есть некоторые данные о стремлении входов от правого и левого глаза взаимно обособляться даже прежде, чем начнется синаптическая передача, большая доля аксонов, несущих информацию от обоих глаз, на ранних стадиях совместно образует синапсы

на общих клетках-мишенях коры. Однако период ранней сигнальной активности, происходящей самопроизвольно и независимо в сетчатке каждого глаза даже до появления зрения, обуславливает полное разделение входов, создавая в коре полосы клеток, которые обслуживаются входами от правого глаза, и чередующиеся с ними полосы, которые обслуживаются входами от левого глаза (рис. 22.109). Правило возбуждения предлагает простую интерпретацию этого явления: два аксона, несущих информацию от соседних участков в левом глазу, часто будут возбуждать свою цель совместно и поэтому совместно же поддерживать с нею связь, как и пара аксонов от соседних участков в правом глазу; но аксон правого глаза и аксон левого глаза будут редко возбуждаться вместе, а потому начнут конкурировать. И в самом деле, если активность от обоих глаз подавляется с помощью медицинских препаратов, которые блокируют биоэлектрические потенциалы или синаптическую передачу, то зрительная кора не в состоянии правильно разделиться на полосы.

Поддержание структуры связей необычайно чувствительно к опыту, полученному в самом начале жизни. Если в течение некоторого *критического периода* (завершающегося у человека примерно к возрасту 5-ти лет) один глаз какое-то время держать закрытым, чтобы лишить его зрительного раздражения, а другому глазу оставить возможность нормального возбуждения, то лишенный зрительного восприятия глаз теряет свои синаптические связи со зрительной корой и становится почти полностью и безвозвратно слепым. В соответствии с тем, что предсказывает правило возбуждения, в течение этого периода происходило соревнование, в ходе которого синапсы, образованные в зрительной коре неактивными аксонами, были устранены, тогда как синапсы, установленные активными аксонами, укрепились. Таким образом, территория зрительной коры выделяется тем аксонам, которые несут существенную информацию, и не раздается впустую тем, что бездействуют.

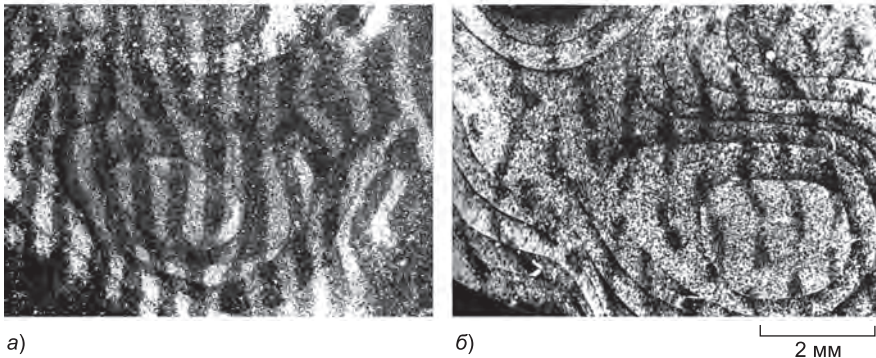


Рис. 22.109. Столбики доминирования глаз в зрительной коре головного мозга обезьяны и их восприимчивость к зрительному опыту. а) Обычно полосы корковых клеток, управляемых правым глазом, чередуются с полосками клеток той же ширины, управляемых левым глазом. Видимые на этом изображении полосы проявлены путем введения радиоактивного индикаторного вещества в один глаз, выжидания определенного времени, необходимого для переноса этого индикатора в зрительную кору, и обнаружения в ней радиоактивности посредством автордиографии срезов, сделанных параллельно поверхности коры. б) Если в течение важного в данном отношении периода развития один глаз остается закрытым и таким образом лишается зрительного опыта, то его полосы сужаются, а полосы активного глаза расширяются. Таким образом, ущемленный в своих правах глаз может почти полностью потерять зрительную способность. (Изображения заимствованы из D. H. Hubel, T. N. Wiesel and S. Le Vay, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 278: 377–409, 1977. С любезного разрешения Королевского научного общества.)

В деле установления нервных связей, которые позволяют нам видеть, отнюдь не только количество зрительного раздражения является важным, но также и его согласование по времени. Например, способность воспринимать глубину пространства — стереоскопическое зрение — зависит от клеток в других слоях зрительной коры, к которым тянутся входы сразу от обоих глаз, по которым передается информация об одной и той же части поля зрения, как бы наблюдаемой под двумя немного отличающимися углами. Такие бинокулярно возбуждаемые клетки позволяют нам сравнивать изображение из правого глаза с изображением из левого и извлекать информацию об относительных расстояниях наблюдаемых объектов от нас. Однако если в течение критического периода никогда не давать обоим глазам видеть одну и ту же картинку в одно и то же время — например, через день закрывать сначала один глаз, а потом другой (такая же ситуация возникает вследствие детского косоглазия), то в зрительной коре почти совсем не сохраняется бинокулярно возбуждаемых клеток и способность к стереоскопическому восприятию безвозвратно утрачивается. Очевидно (в соответствии с правилом возбуждения), что входы от каждого глаза к бинокулярно возбуждаемому нейрону поддерживаются только в том случае, если оба входа часто включаются на синхронное возбуждение, что происходит, когда оба глаза одновременно созерцают одинаковую картину.

22.8.11. Память взрослой особи и перестройка синапсов в период развития, возможно, контролируются схожими механизмами

В главе 11 мы показали, что лежащие в основе памяти изменения синапсов, по крайней мере в некоторых частях мозга взрослого, особенно в гиппокампе, зависят от поведения рецептора нейротрансмиттерного глутамата особого типа — рецептора NMDA. Ионы Ca^{2+} , поступающие в постсинаптическую клетку через каналы, открытые этим рецептором, вызывают длительные изменения в силах синапсов, установленных на этой клетке, затрагивая и предсинаптические, и постсинаптические структуры. Изменения в мозге взрослого организма, вызываемые зависимым от NMDA механизмом, подчиняются правилам, весьма схожим с работающим в период развития правилом возбуждения: события внешнего мира, способствующие активизации сразу двух нейронов одновременно благоприятствуют созданию или упрочению синапсов между ними. Высказано предположение, что именно на этом принципе, называемом *правилом Хебба*, и зиждется ассоциативное обучение.

Возможно ли, что в таком случае и наблюдаемые при обучении взрослого формы синаптической пластичности и более резкие ее варианты, обнаруживаемые в ходе развития, зависят от одного и того же основополагающего механизма настройки и перенастройки синапсов? Имеется много данных, подтверждающих правдоподобие такого предположения. Например, ингибиторы, которые специфично блокируют активацию рецепторов NMDA, мешают уточнению и перестройке синаптических связей в развивающейся зрительной системе. Как у развивающегося молодняка, так и у взрослых животных, изменения в силе синаптических связей соответствуют изменениям в физической структуре последних. Однако масштаб таких физических изменений сильно различается. В развивающемся организме электрическая активность зачастую регулирует вытягивание и сокращение больших ветвей деревьев аксонов и дендритов. В мозгу же взрослой особи структурные преобразования, происходящие в ответ на активность, обычно ограничиваются гораздо более скромными масштабами и влияют на размеры отдельных дендритных шипиков — крошечных, не более нескольких микрометров в длину, выпячиваний в форме набалдашников, на которые

дендриты принимают отдельные синапсы (рис. 22.110). Кажется, что ионы Ca^{2+} , входящие в шипик через каналы NMDA в ответ на возбуждение синапса на этом конкретном шипике, могут побудить только этот шипик перестроить свой актиновый цитоскелет. Но многое еще остается узнать о механизме таких изменений и об их влиянии на обучение и память. Поиск молекулярной основы процессов перестройки синапсов, посредством которых опыт и научение создают наш мозг, остается одной из главных задач, которые нервная система ставит перед клеточными биологами.

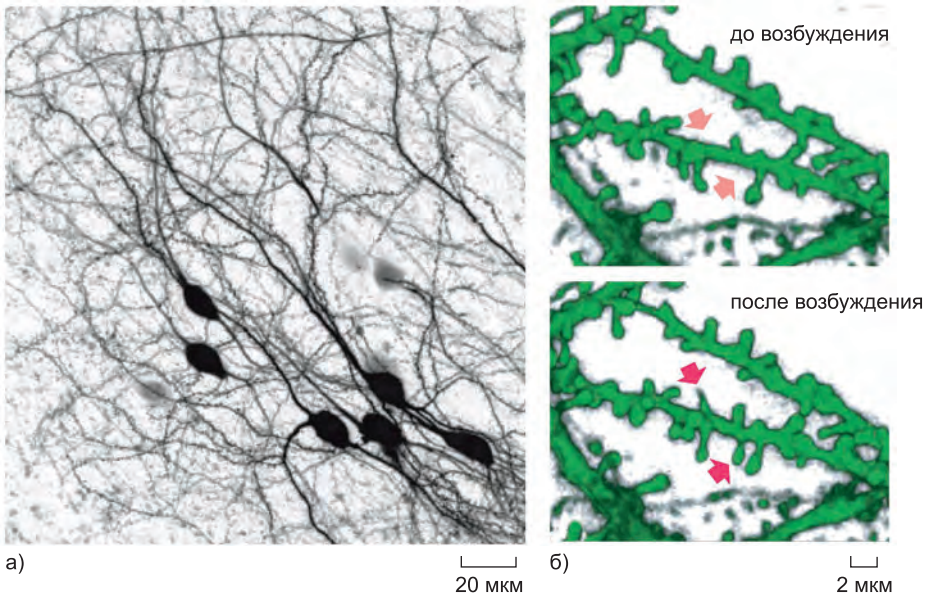


Рис. 22.110. Рост дендритных шипиков в ответ на синаптическое возбуждение. а) Нейроны в тонком срезе живой ткани из гиппокампа молодой мыши. Клетки помечены экспрессией зеленого флуоресцентного белка и наблюдаются в двухфотонный лазерный растровый микроскоп, который позволяет видеть отдельные дендриты с высоким разрешением. Представлено также проявленное изображение малой части некоторых дендритов. Они покрыты крошечными дендритными шипиками, которые покрыты синапсами. б) Повторные интенсивные импульсы синаптического возбуждения, вызываемого в течение 30 минут близлежащим микроэлектродом, приводят к образованию новых шипиков. Возбуждение на низкой частоте оказывает противоположное действие и обуславливает втягивание новоявленной подгруппы шипиков. (Снимки заимствованы из U. V. Nägerl, N. Eberhorn, S. B. Cambridge and T. Bonhoeffer, *Neuron* 44:759–767, 2004. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

Заключение

Развитие нервной системы протекает в три стадии: сначала путем клеточного деления образуются нервные клетки; затем, прекратив деление, они выпускают аксоны и дендриты, через которые образуют обильные синапсы с другими, удаленными от них клетками, и устанавливают тем самым связь; наконец, согласно карте электрической активности в нейронной сети первичная система синаптических связей уточняется и перестраивается.

Нейроны и глиальные клетки — их вечные спутники, происходят от эктодермальных клеток-предшественников, при этом клетки, возникшие в разное время и в разных местах, экспрессируют разные наборы генов, способствующие

предопределению связей, которые они сформируют. Аксоны и дендриты отрастают от нейронов за счет конусов нарастания, которые следуют по определенным путям, размеченным особыми путеводными сигналами. Структуры, такие как вентральная пластинка спинного мозга зародыша, выделяют и привлекающие и отталкивающие вещества, на которые конусы нарастания от разных классов нейронов реагируют по-разному. По достижении предписанной им области аксоны избирательно выпускают окончания на подгруппу наличествующих поблизости клеток, и во многих частях нервной системы устанавливаются нейронные карты — упорядоченные проекции одного множества нейронов на другое. Например, в ретиногенной системе карта основана на взаимном соответствии взаимодействующих систем позиционных маркеров клеточной поверхности — эфринов и рецепторов Eph, — присущих клеткам этих двух групп.

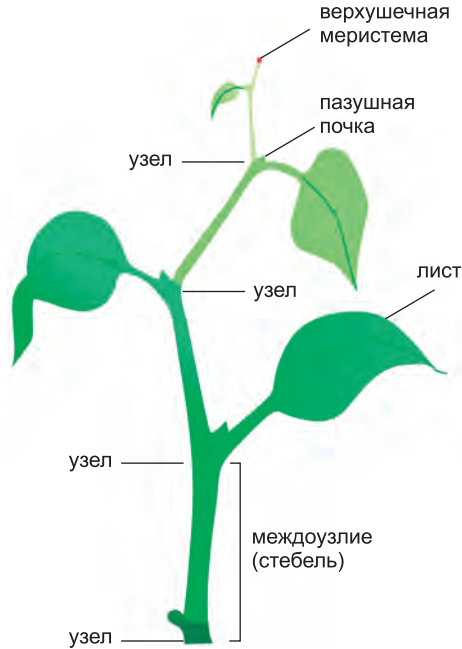
После того как конусы нарастания достигли своих целей и сформировали первичные связи, происходит их перенастройка (двух основных видов). Во-первых, многие из иннервирующих нейронов умирают в результате соревнования за факторы выживания, такие как ФРН (фактор роста нервов), выделяемые обслуживаемой ими тканью. Подобная гибель клеток позволяет организму регулировать степень иннервации целевой ткани согласно объему последней. Во-вторых, отдельные синапсы деградируют в одних местах и усиливаются в других, для того чтобы создать более тонко упорядоченную структуру связей. Этот процесс зависит от электрической активности: синапсы, которые часто бывают активными, укрепляются, и разные нейроны, контактирующие с одной и той же целевой клеткой, как правило, поддерживают свои синапсы на общей цели только в том случае, если они оба часто бывают активны в одно и то же время. Таким образом структура мозга способна к самонастройке, для того, чтобы отражать связи между событиями внешнего мира. Вполне возможно, что молекулярный механизм, лежащий в основе такой синаптической пластичности, подобен механизму, отвечающему за память взрослого индивидуума.

22.9. Развитие растений

Растения и животных разделяют примерно 1,5 миллиарда лет эволюционной истории. Их внутренняя организация развивались независимо друг от друга, но на основе одного и того же первичного набора инструментов — набора генов, унаследованных от общего одноклеточного предка-эукариота. Большинство наблюдаемых отличий может быть объяснено двумя особенностями растений. Во-первых, они получают необходимую энергию из солнечного света, а не поглощают другие организмы. Этим обуславливаются специфические особенности строения растений, столь разительно отличающихся от устройства организма животного. Во-вторых клетки растений заключены в жесткие оболочки из целлюлозы и прочно скреплены между собой, что лишает их свободы перемещений, свойственной клеткам животных. В силу этого при формировании тела растений работают совсем другие механизмы, а одни и те же воздействия запускают в растениях принципиально отличные процессы.

Развивающееся животное в значительной степени ограждено от изменений внешней среды, и все зародыши формируют одну и ту же генетически предопределенную структуру тела, на которую практически не влияют меняющиеся условия внешнего мира. Развитие большинства растений, напротив, во многом зависит от окружающей среды. Поскольку растения не могут подобрать себе наиболее подходящую среду оби-

Рис. 22.111. Простой пример модульного построения растений. Каждый модуль (модули окрашены оттенками зеленого) состоит из стебля, листа и почки, таящей в себе потенциальную точку роста, или меристему. Почка формируется в точке ветвления или узле: там, где лист отходит от стебля. Такие модули последовательно образуются из непрерывно работающей верхушечной меристемы.



тания, перемещаясь с места на место, они приспособляются к ней, меняя направление своего развития. Можно сказать, что они придерживаются оппортунистического взгляда на жизнь. В зависимости от стимулов окружающей среды любой орган растения — будь то лист, цветок или, скажем, корень, — может развиваться из оплодотворенной яйцеклетки разными способами. Так, лист бегонии, пригнутый и прикопанный землей, может пустить корни, которые могут дать полноценные побеги с листьями и цветками.

Как показано на [рис. 22.111](#), каждое взрослое растение построено из повторяющихся многочисленных копий небольшого набора стандартных модулей. Расположение этих модулей и время их встраивания в общую структуру растения сильно зависит от окружающей среды, которая может значительно менять облик растения. В каждый момент времени выбор между развитием альтернативных модулей и вариантами их организации в целое растение зависит от внешних стимулов и гормональных сигналов дальнего действия, которые играют намного меньшую роль в управлении развитием животного.

Хотя общая структура растения — присущая ему система корней или ветвей, характерное для него число листьев или цветков — может изменяться в широких пределах, его организация на уровне взаимодействия клеток неизменна. В отличие от *неопределенной* схемы ветвления и выпускания ростков, строение листа, цветка или даже целого зародыша растения на ранних стадиях развития столь же точно предопределено, как и любой орган животного, и обладает *определенной* структурой. Внутренняя организация модуля растения затрагивает, по существу, те же вопросы в отношении генетического управления образованием систем клеток, что и развитие животных, и во многих случаях параллели с животными очевидны. В этой части мы сосредоточим наше внимание на клеточных механизмах развития цветковых растений и рассмотрим их сходства, так и различия с аналогичными механизмами развития животных.

22.9.1. В качестве модельного организма для исследования молекулярной генетики растений обычно используется *Arabidopsis thaliana*

Несмотря на свое удивительное разнообразие, цветковые растения появились относительно недавно. Самым древним из известных образцов ископаемых 130 мил-

лионов лет, по сравнению с 350 миллионами лет или даже более для окаменелостей позвоночных животных. В силу этого понятно, почему наблюдается столь высокое подобие молекулярных механизмов, лежащих в основе наблюдаемого разнообразия форм. Как мы увидим, небольшое генетическое изменение может существенно преобразить структуру растения в большом масштабе, и, точно так же как физиология растения позволяет ему выживать в разнообразных природных условиях, она позволяет образовываться и развиваться различным органам растения. Мутация, которая дает животному две головы, в большинстве случаев будет смертельна; в то же время удвоение числа цветков или ветвей на растении, как правило, не принесет ему никакого вреда.

Чтобы определить гены, управляющие развитием растения, и узнать, как они работают, ученые, занимающиеся биологией растений, избрали на роль главного модельного организма маленький сорняк, резуховидку Таля *Arabidopsis thaliana*, которую обычно называют арабидопсис. (рис. 22.112). Подобно дрозофиле или *Caenorhabditis elegans*, этот объект мал, быстро воспроизводится и удобен для генетических манипуляций. Его можно выращивать в большом количестве в закрытом помещении — в чашках Петри или небольших цветочных горшках причем одно это растение уже на 8–10-ю неделю даст сотни семян. Подобно *C. elegans*, арабидопсис имеет существенное для генетики преимущество над дрозофилой и позвоночными животными: как и многие цветковые растения, она по сути дела является гермафродитом, потому что один цветок дает и яйцеклетки, и мужские гаметы, способные их оплодотворить. Поэтому, когда цветок, гетерозиготный по рецессивной летальной мутации, самоопыляется, одна четверть его семян окажется гомозиготными по этой мутации. Все это облегчает выполнение генетического скрининга (рис. 22.113), а тем самым и составление каталога генов, требующихся растению для осуществления определенных процессов развития.

22.9.2. Геном *A. thaliana* богат генами, управляющими развитием растения

Среди растений арабидопсис обладает одним из наиболее небольших геномов размером в 125 млн. п. н. (составимом с *C. elegans* и дрозофилой), к тому же известна полная нуклеотидная последовательность ее ДНК. В ней содержится около 26 000 генов. Однако в это общее число входит много не так давно (с точки зрения эволюции!) возникших копий генов, так что число кодируемых ими белков, выполняющих разные функции, может быть значительно меньше. Для арабидопсиса разработаны методы выращивания клеточных культур и генетических трансформаций, а так же собраны богатые библиотеки семян с мутациями, полученных путем случайной вставки мобильных генетических элементов, так что теперь



Рис. 22.112. *Arabidopsis thaliana*. Это маленькое растение — представитель семейства или Крестоцветных (см. также рис. 1.46). Это сорняк, который не имеет никакой ценности с точки зрения экономики, однако чрезвычайно важен для генетических исследований развития растений. (Заимствовано из М. А. Estelle and С. R. Somerville, *Trends Genet.* 12: 89–93, 1986. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

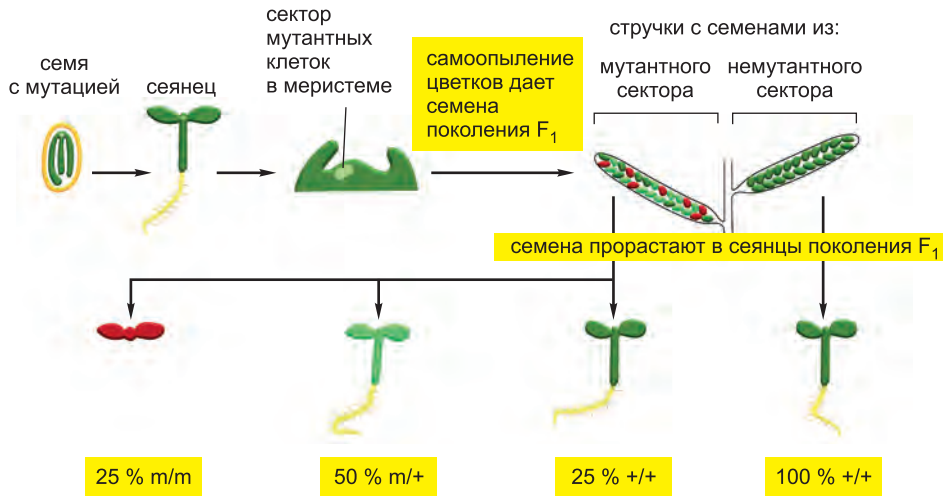


Рис. 22.113. Получение мутантов арабидопсиса. Семечко, содержащее многоклеточный зародыш, обрабатывают химическим мутагеном и оставляют вырастать в растение. Вообще говоря, такое растение будет мозаикой из клонов клеток, несущих разные мутации. Однако каждый отдельно взятый цветок, распутившийся на этом растении, как правило, будет состоять из клеток, принадлежащих одному клону, все из которых несут одну и ту же мутацию m в гетерозиготной форме ($m/+$). Самоопыление отдельных цветков своею же собственной пылью дает стручки с семенами, в каждом из которых сидит семейство зародышей, половина из которых в среднем будет гетерозиготной ($m/+$), одна четверть будет представлена гомозиготными мутантами (m/m) и еще четверть — гомозиготами дикого типа ($+/+$). Нередко мутация будет иметь рецессивный летальный эффект, что показано здесь отсутствием корня у проростка m/m . Затем мутантная линия поддерживается путем разведения от гетерозиготы: она дает стручки с семенами (поколение F_2), представляющими собой смесь типов $+/+$, $m/+$ и m/m .

всегда можно получить растения с мутациями в любом выбранном по желанию гене. Таким образом, в распоряжении ученых имеются мощные средства для анализа функций практически всех отдельно взятых генов. Хотя к настоящему времени экспериментально охарактеризована лишь малая их доля, можно приблизительно описать функции 18 000 генов, на основе сходства их последовательностей с последовательностями уже изученных генов арабидопсиса и других организмов.

Геном арабидопсиса богат регуляторными генами даже в большей степени, чем геномы многоклеточных животных (таблица 22.2). Некоторые семейства характерных для животных регуляторных белков (типа семейства Myb ДНК-связывающих белков) у арабидопсиса значительно расширены, тогда как другие (такие как гены ядерных рецепторов гормонов), похоже, полностью отсутствуют, помимо этого, у растений обнаружено множество семейств регуляторных белков, не имеющих гомологов в царстве животных.

В тех случаях, когда у растений и животных можно найти гомологичные регуляторные белки (например, белки, содержащие гомеодомен), они имеют мало общего в плане регулируемых ими генов или в отношении характера принимаемых в ходе развития решений, кроме того, консервативность аминокислотных последовательностей помимо ДНК-связывающих участков крайне мала.

Подобно многоклеточным животным, арабидопсис обладает большим числом генов для межклеточной коммуникации и передачи сигналов (около 1900 генов

Таблица 22.2. Некоторые из основных семейств регуляторных белков у арабидопсиса, дрозофилы, нематоды и дрожжей

| СЕМЕЙСТВО | ЧИСЛО ЧЛЕНОВ СЕМЕЙСТВА, ПРЕДСКАЗАННОЕ ПО ДАННЫМ АНАЛИЗА ГЕНОМА | | | |
|---|--|-------------------|-------------------|----------------------|
| | <i>Arabidopsis</i> | <i>Drosophila</i> | <i>C. elegans</i> | <i>S. cerevisiae</i> |
| Myb | 190 | 6 | 3 | 10 |
| AP2/EREBP (Apetala2/связывающийся с реагирующим на этилен элементом белок) | 144 | 0 | 0 | 0 |
| bHLH (основная спираль-петля-спираль) | 109 | 0 | 0 | 0 |
| NAC | 89 | 103 | 84 | 9 |
| C2H2 (белок с цинковыми пальцами) | 82 | 2 | 2 | 4 |
| Гомеоблок | 81 | 21 | 25 | 21 |
| блок MADS | 72 | 0 | 0 | 0 |
| bZIP | 56 | 0 | 0 | 0 |
| WRKY (белок с цинковыми пальцами) | 104 | 6 | 9 | 10 |
| GARP | 0 | 21 | 25 | 0 |
| C2C2 (белок с цинковыми пальцами)/GATA | 0 | 0 | 0 | 52 |
| | 1 533 | 635 | 669 | 209 |
| Ядерный рецептор гормонов | | | | |
| S6 (белок с цинковыми пальцами) | 5,9 | 4,5 | 3,5 | 3,5 |
| Оценка общего числа (с учетом других, не приведенные выше семейств регуляторных белков) | | | | |
| % от общего числа генов в геноме | | | | |

Примечание. В таблице приведены только те семейства, которые хотя бы у одного организма имеют минимум 50 членов. (Данные взяты из J. L. Riechmann et al., *Science* 290: 2105–2110, 2000. С любезного разрешения AAAS.)

из 18 000 классифицированных), но конкретные элементы этих наборов генов сильно отличаются, что отмечено в главе 15. Например, у резуховидки Таля совершенно отсутствуют такие сигнальные пути, как Wnt, Hedgehog, Notch и TGFβ. В качестве компенсации у арабидопсиса развиты иные пути передачи сигналов, свойственными растениям. Рецепторы-тирозинкиназы на плазматической мембране арабидопсиса, по-видимому, полностью отсутствуют, хотя имеются многие из компонентов этих сигнальных путей, лежащих в этих каскадах ниже по отношению к этим рецепторам у животных. Рецепторы класса серин/треонинкиназ, напротив, весьма разнообразны, однако они работают через иную систему внутриклеточных посредников, нежели рецепторные серин/треонинкиназы у животных. Значительное число генов связано с процессами развития, особенно важными для растений: например, более 1 000 генов вовлечено в синтез и перестройку стенки растительной клетки, и более 100 отвечает за восприятие света и развитие реакции на него.

Ну а сейчас нам предстоит узнать, каким образом гены растения управляют его развитием.

22.9.3. Развитие зародыша начинается с установления корне-побеговой оси и затем приостанавливается внутри семени

Основная стратегия полового размножения цветковых растений вкратце представлена в **приложении 22.1**. Оплодотворенная яйцеклетка, или зигота высшего

растения, осуществляет ассиметричное деление, устанавливая тем самым полярность будущего зародыша. Один продукт такого деления — маленькая клетка с плотной цитоплазмой, которая и станет собственно зародышем. Другой — большая содержащая вакуоли клетка, которая делится далее и формирует структуру, называемую *подвеском (суспензором)*, в какой-то степени соответствует пуповине млекопитающих. Подвесок прикрепляет зародыш к смежной питающей ткани и образует путь для транспорта питательных веществ.

На следующей стадии развития диплоидная клетка зародыша разрастается и образует шар клеток, который быстро приобретает поляризованную структуру. Он включает в себя две ключевые группы разрастающихся клеток: одну на конце зародыша со стороны подвеска, которая в сотрудничестве с самой верхней клеткой подвеска в дальнейшем образует корень, и — на противоположном конце — вторую, образующую побег (рис. 22.114). Установленная таким образом ось корень—побег аналогична оси голова-хвост животного. С этого времени становится возможным отличить будущие *эпидермальные клетки*, формирующие самый наружный слой зародыша, *клетки основной паренхимы*, занимающие почти всю его внутреннюю часть, и *клетки проводящей ткани*, формирующие его сердцевину (приложение 22.2). Эти три группы клеток можно уподобить трем зародышевым листкам эмбриона животного. Немного позже в процессе развития зачаток побега начинает выпускать первые зародышевые листья, или *семядоли* — одну у однодольных и две у двудольных. Вскоре после этой стадии развитие обычно приостанавливается и зародыш упаковывается в *семя* (образуемую из тканей материнского растения оболочку), приспособленное для распространения и выживания в неблагоприятных условиях. Зародыш в семени законсервирован обезвоживанием и может пребывать в состоянии покоя в течение весьма длительных периодов времени — до нескольких сотен лет. При повторном увлажнении семени прорастают и развитие зародыша возобновляется.

С целью определения генов, управляющих организацией зародыша, и сортировки их по мутантным фенотипам в гомозиготе, у арабидопсиса можно применить

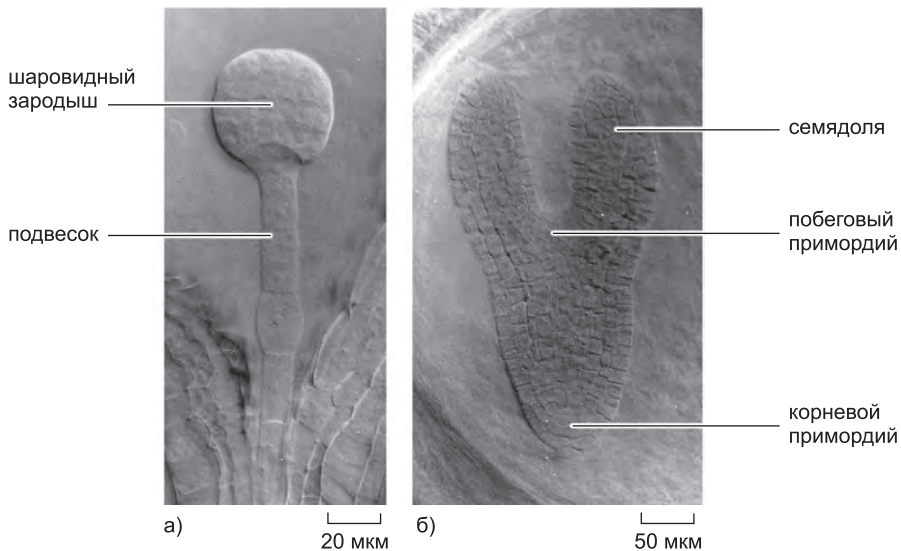
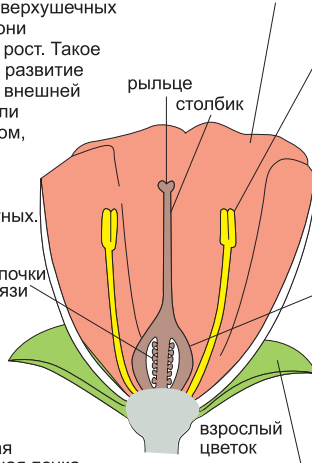
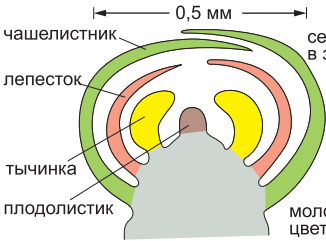


Рис. 22.114. Две стадии развития зародыша *Arabidopsis thaliana*. (Изображения заимствованы из G. Jürgens et al., *Development [Suppl.]* 1: 27–38, 1991. С любезного разрешения The Company of Biologists.)

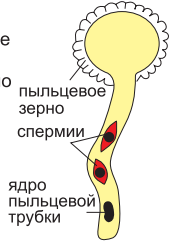
ЦВЕТОК

Цветки, в которых у высших растений находятся репродуктивные клетки, появляются из верхушечных меристем вегетативных побегов, когда они прекращают дальнейший вегетативный рост. Такое переключение с вегетативного роста на развитие цветка нередко запускается факторами внешней среды, скажем, длиной светового дня или перепадами температуры. Таким образом, генеративные клетки появляются из соматических клеток растения на поздних стадиях его развития, а не из линии генеративных клеток, как у животных.



Лепесток: характерная листоподобная структура, обычно ярко окрашенная; облегчает опыление, привлекая насекомых.

Тычинка: орган, в котором содержится клетки, проходящие мейоз и образующие гаплоидные пыльцевые зерна; в каждое такое зерно заложены две мужские половые клетки — два спермия. Пыльца, перенесенная на рыльце пестика, прорастает и пыльцевая трубка доставляет пару неподвижных спермиев в завязь.



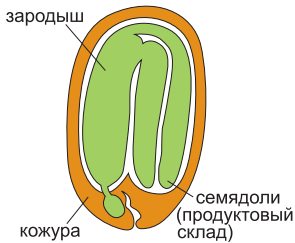
Плододлистик: орган, вмещающий в себя одну или несколько завязей, в которых таятся семяпочки. В каждой семяпочке находятся клетки, которые подвергаются мейозу и формируют зародышевый мешок, содержащий женскую половую клетку — яйцеклетку. При оплодотворении один спермий сливается с яйцеклеткой и образует будущий диплоидный зародыш, тогда как другой сливается с двумя клетками зародышевого мешка и образует триплоидную ткань эндосперма.

Чашелистики: листовидные структуры, на ранних стадиях развития цветка образующие вокруг него защитный кожух.

Строение цветка отличается большим разнообразием форм и вместе с тем постоянно для каждого вида, почему и служит видовым признаком. В общем случае цветок образован четырьмя расположенными в виде концентрических колец наборами структур, каждую из которых можно считать видоизменённым листом.

СЕМЯ

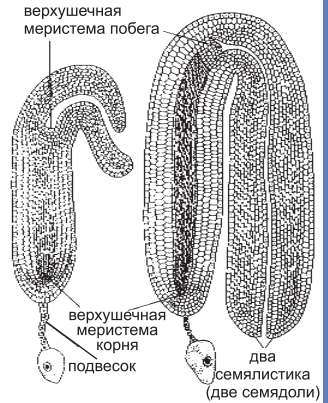
Семя состоит из покоящегося зародыша, запаса питательных веществ и семенной кожуры. К концу развития зародыша содержание воды в семени может понизиться с 90 % до 5 %. Семя обычно окружено плодом из тканей материнского происхождения.



ЗАРОДЫШ



Оплодотворенная яйцеклетка в семяпочке вырастает в зародыш, потребляя питательные вещества, транспортируемые из эндосперма по подвеску. Из сложной череды клеточных делений, представленной здесь на примере сорняка пастушьей сумки, выходит зародыш с корневой верхушечной меристемой, верхушечной меристемой побега и одним (у однодольных) или двумя (у двудольных) семялистиками, иначе называемыми семядолями. На этой стадии развитие зародыша приостанавливается и семяпочка, содержащая его в себе, превращается в семя, приспособленное к распространению и выживанию.



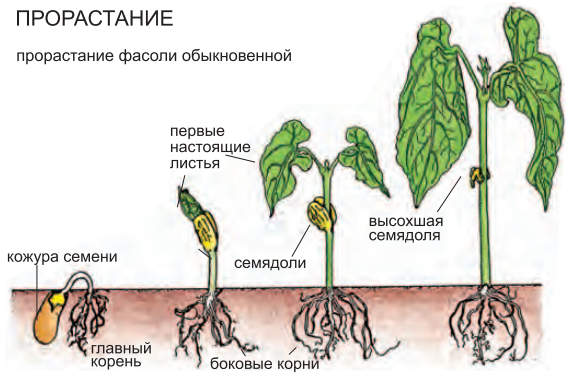
Для того чтобы зародыш возобновил свой рост, семя должно прорасти, причем этот процесс зависит как от внутренних факторов (состояние покоя), так и от факторов окружающей среды, таких как вода, температура и кислород. Запасы питательных веществ, необходимых для протекания ранней стадии прорастания, могут быть представлены или эндоспермом (кукуруза), или семядолями (горох и фасоль).

Первым из семени обычно появляется главный корень, призванный в скорейшем времени наладить водное питание проростка. Семядоля (одна или две) может выйти на поверхность земли, как у показанной здесь обыкновенной фасоли, или остаться в почве, как у гороха. В обоих случаях семядоли в конечном счете увядают и отсыхают.

После этого верхушечная меристема начинает воплощать в жизнь заложенную в нее программу непрерывного роста и производит типичную для данного растения систему узлов, междоузлий и почек (см. рис. 22.106).

ПРОРАСТАНИЕ

прорастание фасоли обыкновенной



генетический скрининг, такой же, как при работе с дрозофилой или *C. elegans*. Некоторые из найденных генов необходимы для формирования корня сеянца, некоторые — для его стебля, а иные — для верхушки сеянца с ее семядолями. Гены другого класса необходимы для формирования тканей трех главных типов — эпидермиса, основной паренхимы и проводящей ткани — и гены еще одного класса — для организованных изменений формы клеток, за счет которых зародыш, а позже и сеянец, приобретают удлиненную форму (рис. 22.115).

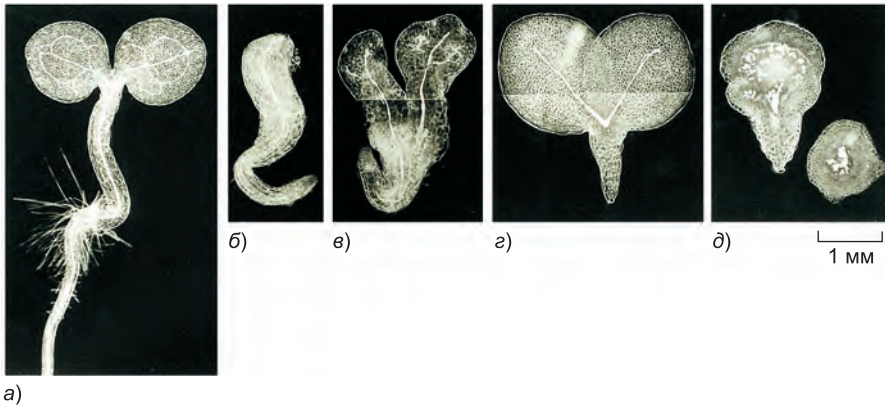


Рис. 22.115. Мутантные проростки арабидопсиса. Нормальный проросток (а) в сравнении с мутантными экземплярами четырех типов (б–е), дефектными в разных частях своей верхушечно-основной конфигурации: б) отсутствуют апикальные структуры; в) имеется верхушка и корень, но нет стебля между ними; г) недостает корня; д) формируются ткани стебля, но есть дефекты в развитии обоих концов. Препараты проростков «высветлили», чтобы показать внутреннюю проводящую ткань (бледные нити). (Изображения заимствованы из U. Mayer et al., *Nature* 353: 402–407, 1991. С любезного разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

22.9.4. Меристемы последовательно формируют части растения

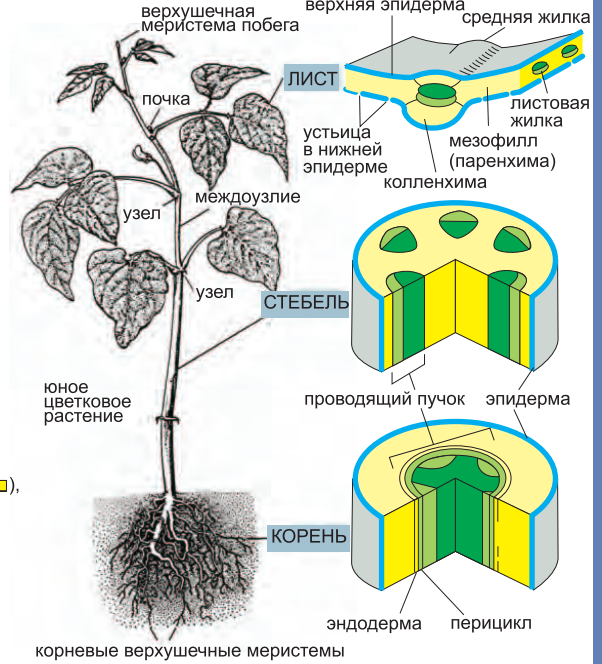
В первом приближении можно считать, что, зародыш насекомого или позвоночного животного представляет собой зачаточную миниатюрную модель взрослого организма, и по мере роста общая структура его тела последовательно заполняется все более мелкими деталями. У растения зародыш вырастает во взрослый организм принципиально другим образом: части взрослого растения последовательно создаются группами клеток, которые разрастаются и образуют добавляемые к периферии растения структуры. Такие «всемогущие» группы клеток называют **верхушечными (или апикальными) меристемами** (см. рис. 22.111). Каждая меристема состоит из самообновляемой популяции стволовых клеток. В результате их деления образуется вереница клеток-потомков, которые вытесняются из области меристемы, увеличиваются в размере и наконец дифференцируются. Хотя побеговая и корневая верхушечные меристемы производят все основные разновидности клеток, которые необходимы для построения листьев, корней и стеблей, многие клетки вне верхушечных меристем также сохраняют способность к дальнейшему разрастанию и поддерживают в себе меристематический потенциал. Таким образом деревья и другие многолетние растения способны, к примеру, ежегодно увеличивать обхват своих стеблей и корней, а если растение повреждено — могут выпускать из покоящихся областей новые побеги.

ТРИ ТКАНЕВЫЕ СИСТЕМЫ

В результате деления, роста и дифференцировки клеток из них образуются системы — ткани со специализированными функциями.
ЗАЩИТНАЯ ТКАНЬ (■): это эпидерма — внешний защитный покров растения, контактирующий с окружающей средой. В корнях эта ткань облегчает всасывание воды и ионов, а в листьях и стеблях регулирует газообмен.
ПРОВОДЯЩАЯ ТКАНЬ: вместе флоэма (■) и ксилема (■) образуют непрерывную сосудистую систему, проходящую по всему растению. Эта ткань проводит по органам воду и растворенные в ней вещества, а также служит механической опорой.
ОСНОВНАЯ ПАРЕНХИМА (■): эта уплотнительная и опорная ткань заполняет большую часть объема молодого растения. Ее роль состоит также в синтезе и запасании питательных веществ.

Молодое цветковое растение, представленное справа, состоит из органов трех основных типов: листьев, стеблей и корней. Каждый орган растения, в свою очередь, образован тканями трех видов: основной (■), защитной (■) и проводящей (■).
 В конечном счете все эти ткани образуются за счет клеток верхушечных меристем, находящихся на вершинах побегов и корней, при этом каждая из них образована специализированными клетками относительно небольшого круга. Сами ткани растения и клетки, из которых они состоят, описаны в этом приложении.

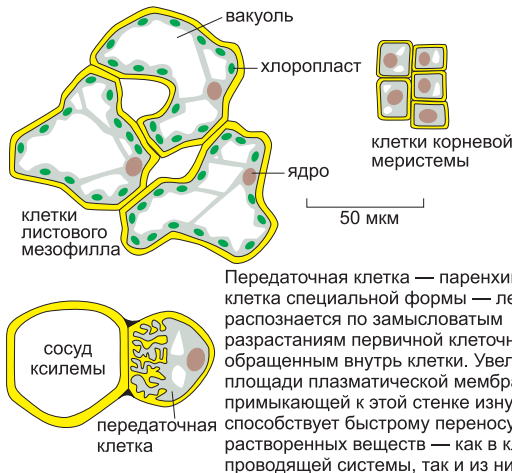
РАСТЕНИЕ



ОСНОВНАЯ ПАРЕНХИМА

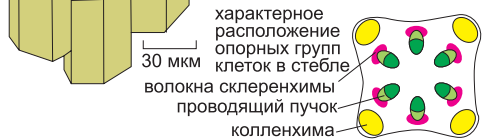
В систему основной паренхимы входят разнообразные клетки, три главных типа которых образуют подсистемы паренхимы, колленхимы и склеренхимы.

Клетки **паренхимы** встречаются во всех тканях. Это живые клетки, большей частью способные к дальнейшему делению и обладающие тонкой первичной клеточной стенкой. Эти клетки способны выполнять широкий спектр функций. Клетки верхушечных и боковых меристем побегов и корней служат источником новых клеток, необходимых для роста. Синтез и запасание питательных веществ происходят в фотосинтетических клетках паренхимы листа и стебля (называемых мезофилльными клетками); клетки запасочной паренхимы образуют мякоть большинства фруктов и овощей. Благодаря своей способности к пролиферации клетки паренхимы служат также стволовыми клетками при заживлении ран и регенерации тканей.



Передаточная клетка — паренхимальная клетка специальной формы — легко распознается по замысловатым разрастаниям первичной клеточной стенки, обращенным внутрь клетки. Увеличение площади плазматической мембраны, примыкающей к этой стенке изнутри, способствует быстрому переносу растворенных веществ — как в клетки проводящей системы, так и из них.

Колленхима — живые клетки, подобные клеткам паренхимы, за исключением того, что они имеют намного более толстые клеточные стенки и обычно удлиняются и собираются в длинные похожие на канаты волокна. Они способны растягиваться и придают механическую прочность ткани основной паренхимы в удлиняющихся областях растения. Клетки колленхимы особенно многочисленны в подэпидермальных областях стеблей.

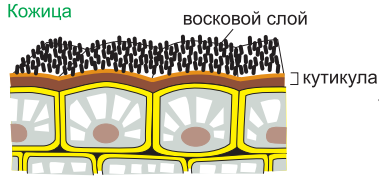


Склеренхима, как и колленхима, имеет упрочняющую и опорную функции. Однако она обычно образована мертвыми клетками с толстыми, одревесневшими

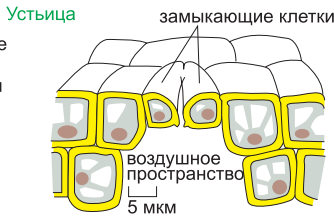
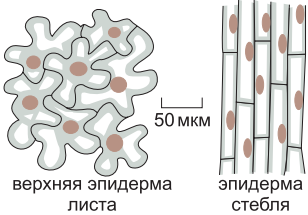


ЗАЩИТНАЯ ТКАНЬ

Эпидерма — первичное внешнее защитное покрытие тела растения. Клетки кожицы способны видоизменяться и превращаться в устьица и волоски разных видов.

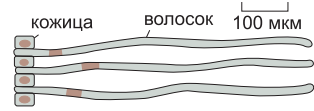


Эпидерма (обычно глубиной в один кле-точный слой) целиком покрывает все стебли, листья и корни молодого растения. Клетки ее живые, имеют толстые первичные клеточные стенки, с внешней стороны покрыты специальной кутикулой с наружным восковым слоем и плотно сцеплены между собой в разных конфигурациях.

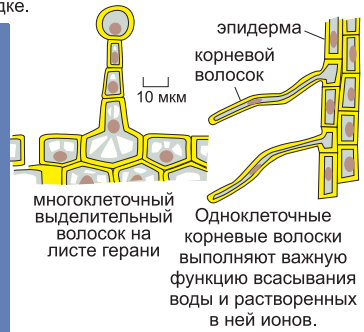


Устьица — отверстия в эпидерме, располагаемые преимущественно на нижней стороне листа, которые регулируют газообмен растения. Они образованы двумя замыкающими клетками — специализированными клетками кожицы, регулирующими диаметр поры. Устьица распределены по коже в своеобразном и характерном для вида растения порядке.

Волоски (или трихомы) — производные клеток эпидермы. Они существуют во множестве форм и обычно встречаются во всех частях растения. Волоски служат делу защиты, всасывания и выделения —

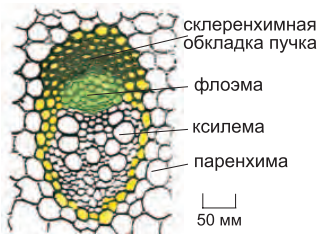


например, молодые одноклеточные волоски на эпидерме хлопкового семени. Когда они вырастают, стенки вторично утолщаются целлюлозой и образуют хлопковые волокна.



Проводящие пучки

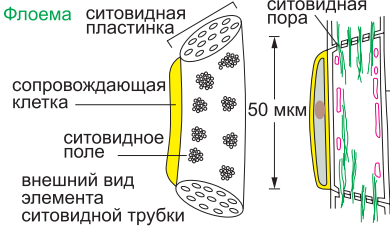
По корням обычно бегут одиночные проводящие пучки, а по стеблям — несколько пучков. У двудольных они расположены согласно строгой радиальной симметрии, а у однодольных рассеяны более или менее нерегулярно.



типичный проводящий пучок в стебле молодого лютика

ПРОВОДЯЩАЯ ТКАНЬ

Вместе флоэма и ксилема образуют непрерывную сосудистую систему, пронизывающую все тело растения. В молодых растениях они обычно объединены с клетками разных других типов в *проводящие пучки*. И флоэма и ксилема — сложные ткани. Их проводящие элементы соединяются с клетками паренхимы, которые питают эти элементы и обмениваются с ними всеми материалами. Кроме того, клетки колленхимы и склеренхимы служат для придания растению механической прочности..

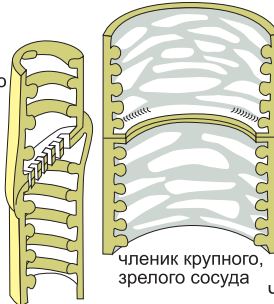


Флоэма участвует в переносе растворенных органических веществ в растении. Главные проводящие клетки (элементы) вытянуты в линию и образуют трубки, называемые *ситовидными трубками*. В зрелом растении элементы ситовидных трубок представляют собой живые клетки, связанные между собой сквозными отверстиями через торцевые стенки, образованные увеличенными и видоизмененными плазмодесмами (ситовидными пластинками). Эти клетки сохраняют свою плазматическую мембрану, но теряют свои ядра и большую часть цитоплазмы, а потому полагаются — в плане обслуживания — на сопутствующие им *клетки-спутницы*. Эти сопровождающие клетки имеют дополнительную функцию активного переноса растворенных молекул питательных веществ из элементов ситовидных трубок (и в эти элементы) через пористые ситовидные поля в стенке последних.

Ксилема

Ксилема несет воду и растворенные ионы по тканям растения. Главные проводящие клетки — представленные здесь членики сосудов, которые после созревания являются мертвыми клетками без плазматической мембраны. Клеточная стенка вторично

членик маленького сосуда в кончике корня



утолщена и сильно одеревенела. Как показано ниже, их торцевая стенка большей частью удалена, что позволяет наращивать очень длинные непрерывные трубки.

Членики сосудов плотно скреплены с паренхимными клетками ксилемы, которые активно транспортируют избранные растворенные вещества из члеников (и в членики) через плазматические мембраны клеток паренхимы.

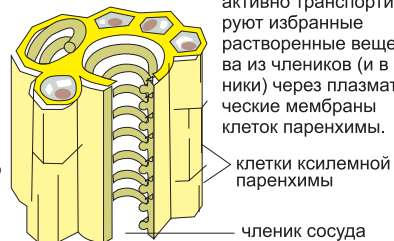




Рис. 22.116. Проросток арабидопсиса. Коричневые объекты справа от молодого проростка — не что иное, как две половинки сброшенной семенной оболочки. (Снимок любезно предоставлен Catherine Duckett.)

Зачатки верхушечных меристем корней и побегов уже заложены в зародыше. Как только семенная кожура разрывается во время прорастания, происходит значительное увеличение в размерах числа немеристематических клеток, приводящее к появлению сначала корня, закрепляющего проросток в почве, а затем уже и побега (**рис. 22.116**). Этому сопутствует быстрое непрерывное деление клеток в верхушечных меристемах: например, в верхушечной меристеме корня кукурузы клетки делятся каждые 12 часов и за одни сутки образуют около $5 \cdot 10^5$ новых клеток. Быстро растущий корень и побег используют окружающую их среду: корень увеличивает способность растения поглощать воду и минералы из почвы, а побег усиливает его способность к фотосинтезу (см. приложение 22.1).

22.9.5. Развитие проростка зависит от внешних сигналов

С момента прорастания и далее путь развития, который изберет растение, во многом зависит от сигналов из окружающей среды. Сначала зародыш должен быстро прокладывать себе путь наверх, пробиваясь через почву, а потом, когда он выйдет на свет, раскрыть свои семядоли и начать фотосинтез. Время такого перехода от быстрого подземного прорастания к световому росту не может быть генетически запрограммировано, потому что глубину, на которую будет погружено семя, предсказать нельзя. Вместо этого, переключатель стратегий развития управляется светом, который, наряду с прочими действиями, воздействует на прорастание, тормозя выработку регуляторов роста растения, относящихся к классу *брассиностероидов*, которые мы обсуждали в главе 15. В результате мутаций в генах, отвечающих за производство или прием брассиностероидных сигналов, стебель проростка становится зеленым, замедляет свое удлинение и преждевременно раскрывает семядоли, когда все еще находится в темноте.

22.9.6. Дальнодействующие гормональные сигналы координируют развитие событий в отдельных частях растения

Разные части растения испытывают действие различных окружающих сред и по-своему на них реагируют путем изменения характера своего развития. Однако растение должно продолжать свою жизнь как единое целое. Для этого необходимо, чтобы каждый выбор, связанный с развитием, и каждое событие в одной части растения реагировали на связанные с развитием решения, принимаемые во всех остальных его частях. Чтобы организовать такое согласованное поведение, нужны сигналы дальнего действия.

Так, садоводам хорошо известно, что, скажем, прищипнув кончик ветки, можно стимулировать боковой рост: удаление верхушечной меристемы освобождает находящиеся в состоянии покоя пазушные меристемы от ингибирования и позволяет им образовать новые побеги. В этом случае исходящий из верхушечной меристемы сигнал дальнего действия или по крайней мере его ключевой компонент хорошо известен. Это ауксин — член одного из нескольких классов **регуляторов роста растений** (иногда называемых *растительными гормонами*, или *фитогормонами*), которые оказывают мощное воздействие на развитие растений. Другие известные классы фитогормонов включают *гиббереллины*, *цитокинины*, *абсцизовую кислоту*, газ *этилен* и *брассиностероиды*. Как показано на **рис. 22.117**, это маленькие молекулы, которые легко проникают через клеточную стенку. Все они синтезируются большинством растительных клеток и могут либо оказывать местное воздействие, либо транспортироваться и влиять на клетки-мишени на расстоянии. Ауксин, например, транспортируется по клеткам от кончика побега к его основанию со скоростью приблизительно 1 см в час. Каждый такой регулятор роста обладает множественным действием, а каждое из них, в свою очередь, регулируется каким-нибудь другим регулятором роста, а также стимулами из внешней среды и состоянием питания. Так, сам по себе ауксин может способствовать образованию корня, но в связке с гиббереллином он может способствовать удлинению стебля; вкупе с цитокинином может подавлять отрастание боковых побегов; а в паре с этиленом — стимулировать рост боковых корней. Примечательно, как мы увидим ниже, что ауксин также управляет подробными картинами специализации клеток в микроскопическом масштабе, возникающими в верхушечной меристеме. Рецепторы, узнающие некоторые из этих регуляторов роста, рассмотрены в главе 15.

22.9.7. Формирование каждой новой структуры зависит от ориентированного деления и роста клеток

Клетки растения, зажатые в своих клеточных стенках, не могут куда-либо переползти и не способны перемешиваться между собой, когда растение растет; однако они

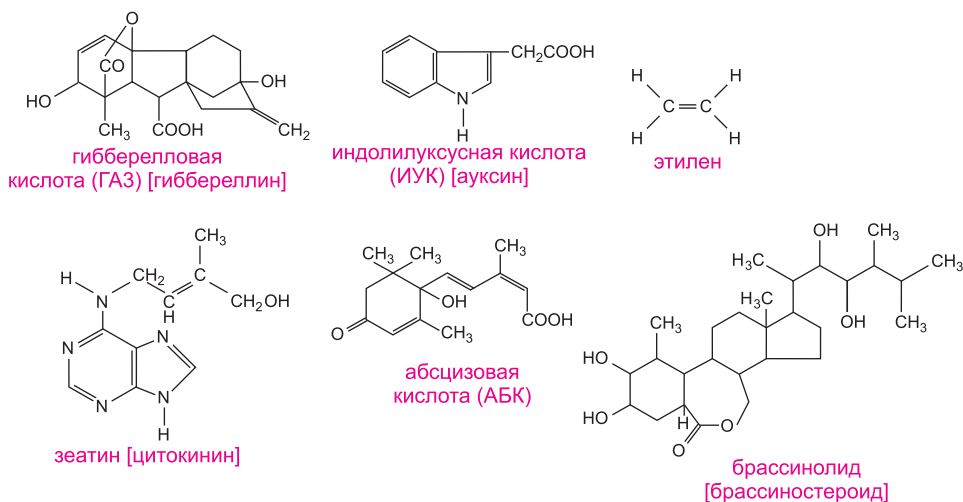


Рис. 22.117. Регуляторы роста растений. Показаны формулы встречающихся в природе характерных представителей всех шести групп регуляторов роста растений (по одному от каждой группы).

могут делиться и способны разбухать, растягиваться и гнуться. Поэтому морфогенез развивающегося растения зависит от упорядоченных клеточных делений, сопровождаемых строго ориентированным ростом клеток. Например, большинство клеток, произведенных в меристеме на кончике корня, проходит три разные стадии развития: деление, рост (удлинение) и дифференцировку. Эти три шага, которые происходят в растущем кончике корня одновременно, придают ему характерное строение. Хотя процесс дифференцировки клеток нередко начинается уже тогда, когда клетка еще только увеличивается в размере, на кончике корня относительно просто различить зону деления клеток, зону ориентированного удлинения клеток (которая и обуславливает рост корня в длину) и зону дифференцировки клеток (рис. 22.118).

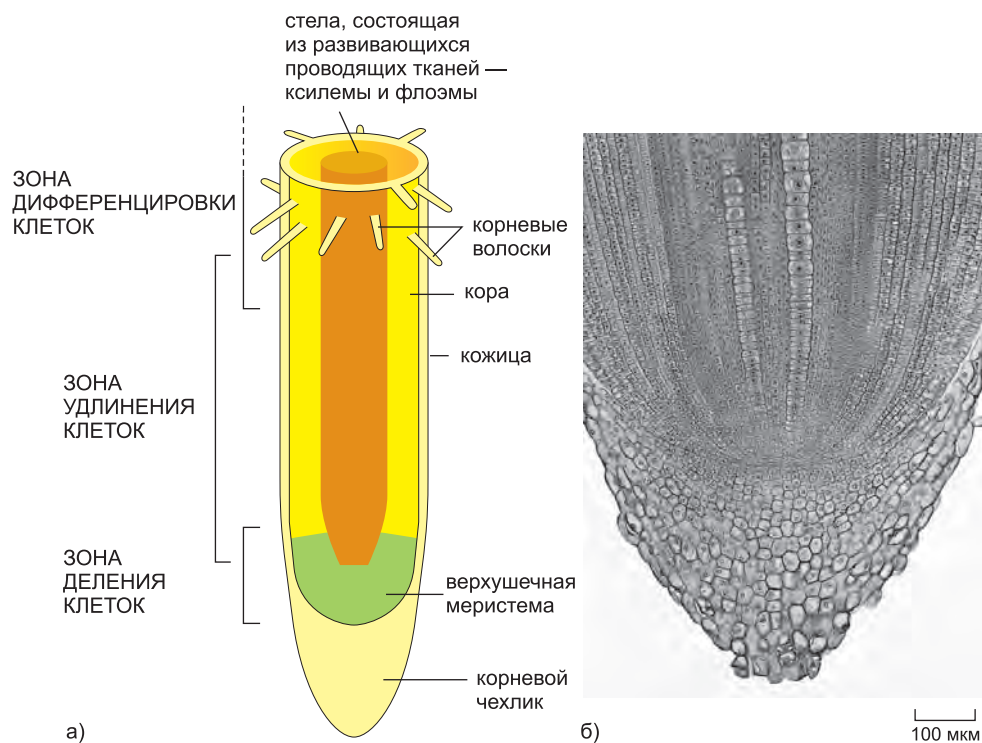
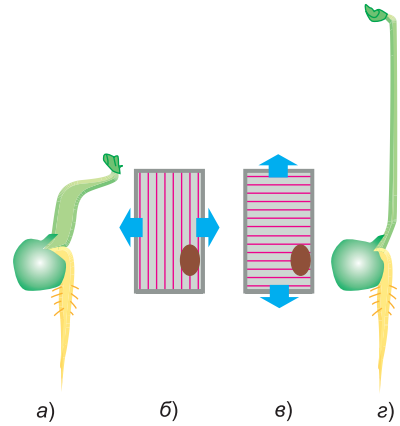


Рис. 22.118. Нарастающий кончик корня. а) Организация последних 2-х мм растущего кончика корня. Отмечены условные зоны, в которых могут быть найдены делящиеся, удлиняющиеся и дифференцирующиеся клетки. б) Верхушечная меристема и корневой чехлик кончика корня кукурузы, в которых хорошо видны выстраивающиеся ряды новых клеток. (Снимок б заимствован из R. F. Evert, *Biology of Plants*, 4th ed. New York: Worth, 1986.)

На стадии управляемого расширения, которая обычно следует за делением клетки, дочерние клетки нередко могут увеличиваться в объеме в 50 и более раз. Такое расширение возможно за счет основанного на осмосе тургорного давления, которое давит изнутри на стенку растительной клетки, при этом направление вызываемой давлением деформации определяет ориентация целлюлозных фибрилл в клеточной стенке, которые ограничивают расширение по одной из осей (см. рис. 19.73). Ориентация фибрилл целлюлозы, в свою очередь, очевидно, контролируется направлением пучков микротрубочек под самой плазматической мембраной, которые, как полагают,

Рис. 22.119. Различные действия регуляторов роста растений: этилена и гибберелловой кислоты. Эти регуляторы оказывают быстрые и противоположные по своему эффекту воздействия на ориентацию пучков микротрубочек в клетках кожицы молодых побегов гороха. Типичная клетка обработанного этиленом растения (б) обнаруживает общую продольную ориентацию микротрубочек, тогда как типичная клетка обработанного гибберелловой кислотой растения (в) демонстрирует общую поперечную их ориентацию. Новые целлюлозные фибриллы откладываются параллельно микротрубочкам. Поскольку это влияет на направление расширения клетки, гибберелловая кислота и этилен стимулируют рост в противоположных направлениях: обработанные этиленом проростки разовьют короткие толстые стебли (а), тогда как обработанные гибберелловой кислотой — дадут длинные тонкие побеги (г).



ориентируют отложение целлюлозы (мы обсуждали это в главе 19). Их ориентация может быстро изменяться регуляторами роста растений, такими как этилен и гибберелловая кислота (рис. 22.119), но молекулярные механизмы, лежащие в основе этих принципиальных перестроек клеточного скелета, все еще неизвестны.

22.9.8. Каждый модульный орган растения вырастает из микроскопического набора примордиев в меристеме

Верхушечные меристемы постоянны: в многолетнем растении они непрерывно выполняют свои функции, пока растение живо, и отвечают за его постоянный рост и развитие. Однако верхушечные меристемы дают начало также и потомкам второго типа, развитие которых строго ограничено по времени и завершается в высшей своей точке формированием короткоживущей структуры типа листа или цветка, определенного размера и формы. Так, по мере удлинения вегетативного (нецветоносного) побега его верхушечная меристема оставляет позади себя упорядоченную последовательность *узлов*, от которых отрастают листья, и *междоузлий* (сегментов стебля). Так непрерывная активность меристемы производит неизменно возрастающее число подобных друг другу модулей, каждый из которых состоит из стебля, листа и почки (см. рис. 22.111). Модули соединены друг с другом и опорной, и проводящей тканями, а следующие друг за другом модули точно располагаются друг относительно друга, в силу чего выстраивается периодически повторяющаяся структура всего растения в целом. Такой итеративный способ развития характерен для растений и проявляется себя во многих других структурах помимо системы стебель-лист (рис. 22.120).

Хотя конечный модуль может быть очень большим, его организация, как и у зародыша животного, сначала определяется в микроскопическом масштабе. В самом центре верхушки побега, в пределах пространства миллиметра или меньше, находится маленький тупоконечный конус нарастания, окруженный группой особых бугорков на разных стадиях набухания (рис. 22.121). Конус нарастания — сама верхушечная меристема; каждое из окружающих его выпячиваний — листовой примордий. Таким образом, эта маленькая область содержит уже обособленные зачатки нескольких полноценных модулей. В рамках строго выполняемой программы пролиферации и расширения клеток каждый листовой примордий и смежные

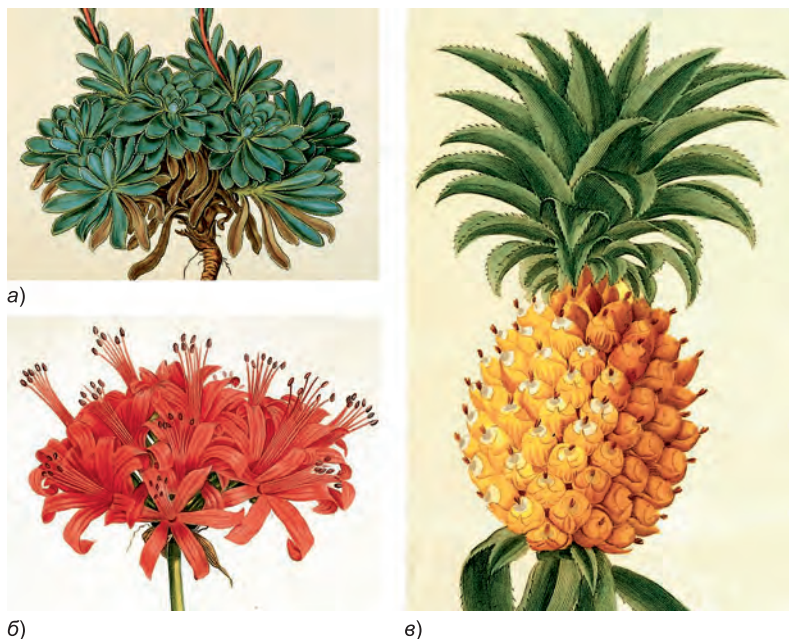


Рис. 22.120. Формирование периодически повторяющейся структуры растений. Благодаря правильному сочленению следующих друг за другом модулей, выходящих из одной верхушечной меристемы, появляются сложные, но вместе с тем правильные конфигурации, которые мы видим в листьях (а), цветках (б) и плодах (в). (Изображение а заимствовано из John Sibthorp, *Flora Graeca*. London: R. Taylor, 1806–1840; б — из Pierre Joseph Redouté, *Les Liliacées*. Paris: chez l'Auteur, 1807; в — из Christopher Jacob Trew, *Uitgezochte planten*. Amsterdam: Jan Christiaan Sepp, 1771. Все — при любезном содействии Фонда John Innes.)

с ним клетки вырастут и образуют лист, узел и междоузлие. Тем временем сама верхушечная меристема будет создавать новые листовые примордии, чтобы производить больше и больше модулей в потенциально нескончаемой последовательности. Таким образом, последовательная организация модулей растения подчинена событиям на верхушке побега.

22.9.9. Схему взаимного расположения примордиев в меристеме задает поляризованный перенос ауксина

Каковы же сигналы, работающие в крошечной верхушечной области и определяющие взаимное расположение примордиев, как эти сигналы вырабатываются в соответствии с их схемой их взаимного расположения? Ответ на этот вопрос был получен в результате исследования мутаций гена *Pin1*, потеря которого предотвращает формирование листовых примордиев, но позволяет главному стеблю продолжать расти, в результате чего образуется длинная тонкая голая структура, напоминающая формой булавку с верхушечной меристемой на головке. Белок *Pin1*, переносчик ауксина, обеспечивает его отток через плазматическую мембрану во внеклеточное пространство. Исходя из этого можно предположить, что листовые примордии отсутствуют у мутанта по причине неправильного распределения ауксина. И в самом деле, небольшая капелька ауксина, помещенная на верхушечную меристему мутанта по гену *Pin1* или другого аналогичного мутанта, на боковой

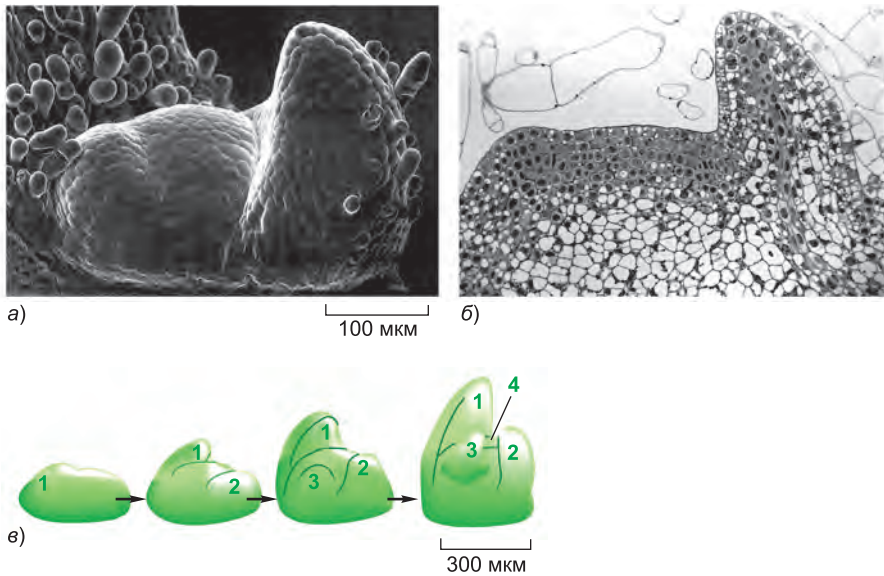


Рис. 22.121. Верхушка побега молодого растения табака. а) Сканирующая электронная фотография верхушки побега с двумя последовательно появляющимися листовыми примордиями, которые выглядят на нем как боковые вздутия с обеих сторон куполообразной верхушечной меристемы. б) Тонкий срез той же верхушки показывает, что самый молодой листовой примордий появляется из маленькой группы клеток (около 100) во внешних четырех или пяти клеточных слоях. в) Очень схематичный рисунок, показывающий, что последовательное появление листовых примордиев имеет место на маленьком расстоянии и в самом начале развития побега. По мере отрастания верхушки в конечном счете сформируются междоузлия, которые разнесут листья по стеблю и выстроят их в определенном порядке (см. рис. 22.111). (Изображения а и б заимствованы из R. S. Poethig and I. M. Sussex, *Planta* 165: 158–169, 1985. С любезного разрешения издательства Springer-Verlag.)

стороне головки «булавки», вызывает образование листового или цветкового примордия в месте обработки ауксином (рис. 22.122, а).

Создав трансгенное (во всем остальном нормальное) растение, которое экспрессирует форму белка *Pin1*, «сшитую» с зеленым флуоресцентным белком, можно наблюдать распределение транспортного белка *Pin1* в живой ткани (рис. 22.122, б–г). В самом внешнем слое клеток меристемы количество белка *Pin1* изменяется от области к области по схеме, которая соответствует схеме развивающихся примордиев, так как ген *Pin1* подвергается стимуляции ауксином. Более того, белок *Pin1* асимметрично распределен в мембранах отдельных клеток, так что они выкачивают больше ауксина на одну сторону, чем на другую, создавая тем самым локальные максимумы, которые определяют, в каких именно местах начнут закладываться примордии. Эти «насосы», по-видимому, сконцентрированы на стороне клетки, обращенной к соседям, у которых собственная концентрация ауксина самая высокая, исходя из чего можно предположить, что в цикле накопления ауксина существует положительная обратная связь. Компьютерные модели показывают, что положительная обратная связь такого типа может усилить асимметрию и произвести картину пиков и провалов концентрации ауксина того же вида, что и наблюдаемая экспериментально. Вклад в асимметрию вносит и ограниченный в пространстве перенос ауксина в перпендикулярном направлении между внешним слоем мери-

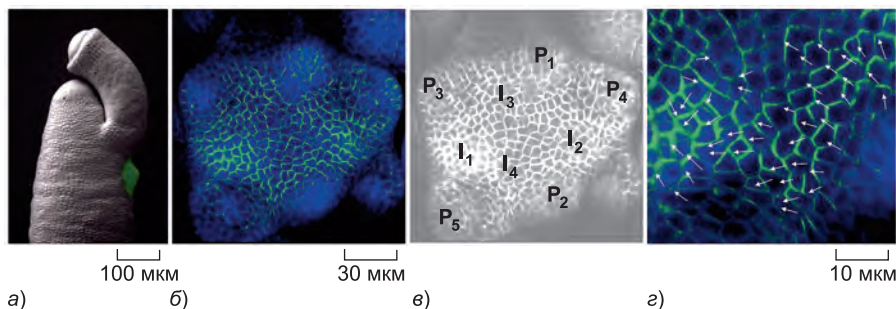


Рис. 22.122. Управление конфигурацией примордиев в меристеме с помощью ауксина и белка Pin1. а) На одну сторону мутантной меристемы, фенотипически подобной мутанту по гену *Pin1*, по причине нехватки белка, необходимого для управления переносом ауксина, нанесли микрокапельку, содержащую ауксин (зеленое пятно). Ауксин вызвал образование бокового цветкового примордия. б) Распределение белка Pin1 — переносчика ауксина — в меристеме. На заснятой сверху (при помощи флуоресцентной микроскопии) верхушечной меристеме *Arabidopsis thaliana* просматривается распределение меченного GFP белка Pin1 в поверхностном слое клеток. в) То же самое изображение с проявленными местами зарождающихся примордиев (P₁ — образовавшийся самым последним примордий, P₄ — наиболее зрелый) и участки развития будущих примордиев (I₁ — разовьется первым, I₄ — разовьется последним). г) Увеличенная часть снимка б, показывающая асимметричное распределение белка Pin1 в мембранах отдельных клеток, за счет которого ауксин направляется к участку зарождающегося примордия. Стрелками указано направление переноса. Когда примордии успешно закладываются, количество белка Pin1 в их поверхностном слое снижается — отчасти потому, что дальнейшие изменения в распределении транспортных белков вызывают отток ауксина вниз, в нижележащую развивающуюся проводящую ткань. Сложные схемы переноса ауксина обуславливают подробную структуру также и многих других развивающихся тканей растения. (Снимок а заимствован из D. Reinhardt et al., *Nature* 426: 255–260, 2003. С любезного разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.; снимки б–г взяты из M.G. Heisler et al., *Curr. Biol.* 15: 1899–1911, 2005. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

стематических клеток и развивающимися пучками проводящей ткани. По мере того как клетки делятся и ткань разрастается, распределение белка Pin1 и ауксина изменяется, создавая новые участки локализации ауксина и новые боковые примордии в правильной последовательности.

Разновидности этой основной повторяющейся схемы могут дать начало более сложной архитектуре: структурам типа усиков, листьев, ветвей и цветков. Таким образом, регулируя экспрессию разного набора генов на верхушке побега, растение может производить примордии разного типа и размещать в соответствии с разными схемами роста.

22.9.10. Передача сигналов между клетками поддерживает меристему

Самый, пожалуй, важный вопрос, возникающий при взгляде на все эти явления заключается в том, как верхушечная меристема поддерживает свое пролиферирующее состояние. Клетки меристемы должны продолжать делиться в течение всей жизни растения, то есть на протяжении многих недель, лет или даже столетий, и самообновляться при непрерывном порождении дочерних клеток, которые различным образом дифференцируются. В продолжение всего этого периода размер группы клеток, образующих меристему, остается практически неизменным (на-

пример, около 100 клеток у *Arabidopsis thaliana*). Когда растение ветвится, могут появляться новые меристемы, но они также сохраняют один и тот же размер.

В ходе генетических скринингов были определены гены, необходимые для поддержания жизнедеятельности меристемы. Например, мутации, разрушающие ген *Wuschel*, который кодирует белок, содержащий гомеодомен, превращают верхушечную меристему в немеристематическую ткань (проростки оказываются не в состоянии прорасти). Мутации в генах группы *Clavata*, кодирующих компоненты пути межклеточных сигналов (см. рис. 15.83), напротив, делают меристему неестественно большой. Эти гены экспрессируются в разных слоях клеток в области меристемы (рис. 22.123, а). Два самых внешних слоя клеток (слои L1 и L2) вместе с высшей частью слоя L3 содержат клетки собственно меристемы, то есть стволовые клетки, способные неограниченно делиться и давать начало будущим частям растения. Меристематические клетки слоев L1 и L2 экспрессируют и секретируют наружу маленький сигнальный белок *Clavata3*. Непосредственно под ними, в слое L3, находится группа клеток, экспрессирующих белок *Clavata1* (рецептор белка *Clavata3*). В центре этого очага экспрессии белка *Clavata1* находятся клетки, которые экспрессируют регуляторный белок *Wuschel*.

Схема деления клеток в меристеме предполагает, что клетки, экспрессирующие белок *Wuschel*, не являются частью собственно меристемы; новые экспрессирующие белок *Wuschel* клетки, очевидно, непрерывно рекрутируются из меристематической (стволовоклеточной) части популяции L3, расположенной над областью клеток, экспрессирующих *Wuschel*. Тем не менее экспрессирующие белок *Wuschel* клетки составляют основу механизма, который поддерживает меристему. Выработываемый ими сигнал поддерживает меристематическое поведение в вышележащих клетках, стимулирует экспрессию генов *Clavata* и, предположительно, побуждает

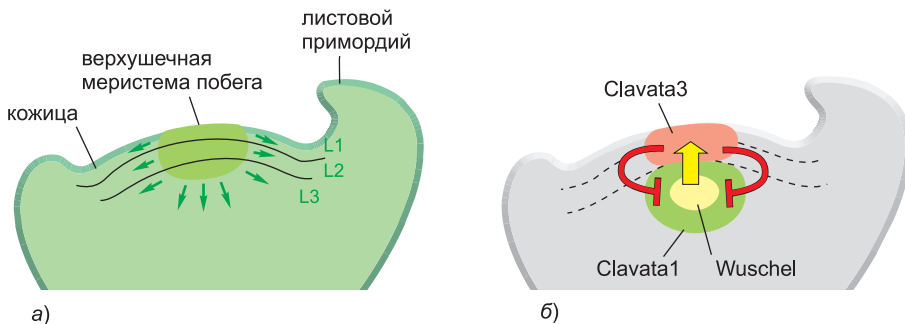


Рис. 22.123. Контуры обратной связи, которые, предположительно, поддерживают верхушечную меристему побега. а) Расположение слоев клеток, образующих верхушечную меристему побега. б) Схема межклеточных связей, которые поддерживают меристему. Искусственная сверхэкспрессия гена *Wuschel* в области L3 вызывает увеличение в слоях L1 и L2 числа клеток, которые ведут себя как меристематические клетки и экспрессируют ген *Clavata3*; искусственная сверхэкспрессия гена *Clavata3* в слоях L1 и L2 вызывает в залегающей ниже области L3 снижение экспрессии гена *Wuschel* и уменьшение числа меристематических клеток. Ген *Clavata3* кодирует маленький сигнальный белок, а ген *Clavata1* кодирует его рецептор — трансмембранную протеинкиназу. Ген *Wuschel*, что экспрессируется в центральной части области, экспрессирующей рецептор *Clavata1*, кодирует регулирующий гены белок, содержащий гомеодомен. Считают, что размер меристемы поддерживается за счет саморегулирующегося равновесия между стимулирующим сигналом ближнего действия, производимым клетками, экспрессирующими белок *Wuschel* (желтая стрелка), и тормозящим сигналом более дальнего действия, поставляемым областью экспрессии сигнального белка *Clavata3* (красные полосы).

новые клетки, попадающие в область экспрессии белка *Wuschel*, начинать синтез. Отрицательная обратная связь от вышележащих меристематических клеток, осуществляемая по сигнальному пути *Clavata*, воздействует на нижележащие области и ограничивает размер популяции клеток, экспрессирующих белок *Wuschel*, а тем самым не дает меристеме стать слишком большой (рис. 22.123, б).

И хотя данное описание регуляции меристемы растения обходит вниманием некоторые важные детали и, несомненно, слишком упрощенное, оно дает представление об одной из наиболее изученных стратегий развития растений: оно показывает, как контур обратной связи, в котором задействованы активирующий сигнал ближнего действия (на подобие того, что производится экспрессирующими белок *Wuschel* клетками) и тормозящий сигнал дальнего действия (типа *Clavata3*), может устойчиво поддерживать сигнальный центр четко заданного размера, и даже тогда, когда имеет место постоянная пролиферация и оборот клеток, образующих такой центр. Как мы отмечали в начале этой главы, многие исследователи предполагают, что в процессах развития животных работают аналогичные системы сигналов, поддерживающие ограниченные в размере сигнальные центры, такие как Организатор в гастреле земноводных или зона поляризующего действия в зачатке конечности. И точно так же как во взрослом растении эта стратегия служит для поддержания его меристем, она может реализовываться и в тканях взрослого животного, таких как кишечный эпителий (обсуждение в главе 23), для поддержания популяций важных групп стволовых клеток взрослого животного.

22.9.11. Мутации регуляторных генов могут влиять на топологию растения, изменив поведение клеток меристемы

Когда стеблю растения приходит пора ветвиться, создаются новые верхушечные меристемы, а это во многом зависит от событий, происходящих в области верхушки побега. В каждом развивающемся узле, в пазухе между листовым примордием и стеблем образуется почка (рис. 22.124). Она содержит совокупность порожденных верхушечной меристемой клеток, сохраняющих свой меристематический характер. Они обладают способностью образовать верхушечную меристему новой ветви или, например, примордий цветка, но также имеют альтернативную возможность остаться покоящимися *пазушными почками*. Схема ветвления растения регулируется выбором из этих альтернатив, и мутации, которые на него влияют, могут изменить структуру всего растения. Разберем это на примере кукурузы.

Модификации кукурузы являются одним из наиболее значимых прорывов, совершенных



Рис. 22.124. Пазушные почки в окрестности верхушки побега. На фотографии показан продольный срез распространённого комнатного растения *Coleus blumei*. (Снимок заимствован из Р. Н. Raven, Р. Ф. Evert and С. Е. Eichhorn, *Biology of Plants*, 6th ed. New York: Freeman/Worth, 1999, с разрешения ответственных лиц).

человечеством в области генной инженерии. Путем планомерной, целенаправленной селекции коренные американцы вывели эту культуру в течение нескольких столетий, а возможно и тысячелетий 5–10 тысяч лет тому назад. Они начали⁷ с дикой травы теосинте с сильно ветвящимися покрытыми листьями стеблями и крошечными початками, имеющими твердые, несъедобные стержни. Детальный генетический анализ помог выделить несколько генетических локусов, примерно пять, в качестве участков, мутации в которых и объясняют большинство различий между этим малообещающим предком и современной кукурузой. Один из этих локусов, с особенно впечатляющим эффектом мутаций, соответствует гену, названному *Teosinte branched-1 (Tb1)*. У кукурузы с мутациями потери функции по гену *Tb1* обычный простой неразветвленный стебель, с разбросанными по нему через промежутки несколькими крупными листьями, преобразуется в плотную ветвящуюся густо покрытую листьями структуру, напоминающую собой теосинте (рис. 22.125, а). Схема ветвления такого мутанта показывает, что образующиеся в нормальных положениях пазушные почки попросту избежали ингибирования, которое в нормальной кукурузе не позволяет им разрастись в ветви.

У нормальной кукурузы одиночный стебель увенчан метелкой — мужским цветком — тогда как несколько пазушных почек, распределенных по стеблю, развиваются в женские цветки и после опыления образуют початки кукурузы, которые мы едим. У мутантной же кукурузы с дефектным геном *Tb1* эти плодородные пазушные почки превращаются в побеги, несущие метелки. Дикое растение теосинте очень похоже на дефектную по гену *Tb1* кукурузу своим покрытым листьями, сильно ветвящимся стеблем, но, в отличие от этого мутанта, оно выбрасывает початки на многих боковых побегах, как если бы ген *Tb1* был активен. Причину этого явления позволил понять анализ ДНК. И теосинте, и нормальная кукуруза обладают функционально активным геном *Tb1* с практически идентичной кодирующей последовательностью, но у кукурузы регуляторная область подверглась мутации, которая повлекла за собой повышение уровня экспрессии данного гена. Таким образом, у нормальной кукурузы этот ген экспрессируется на высоком уровне во всех пазушных почках, тормозя образование ветвей, тогда как у теосинте его экспрессия во многих пазушных почках низка, так что ветви могут образовываться и спокойно расти (рис. 22.125, б).

Этот пример показывает, как простые мутации, изменив поведение клеток меристемы, могут преобразовать структуру целого растения, что является важнейшим базисом для селекции сельскохозяйственных растений. Вообще говоря, данный пример с геном *Tb1* иллюстрирует принцип возможного появления в ходе эволюции новых вариантов строения тела — растения или животного — за счет изменений в регуляторных областях ДНК без изменения характера синтезируемых белков.

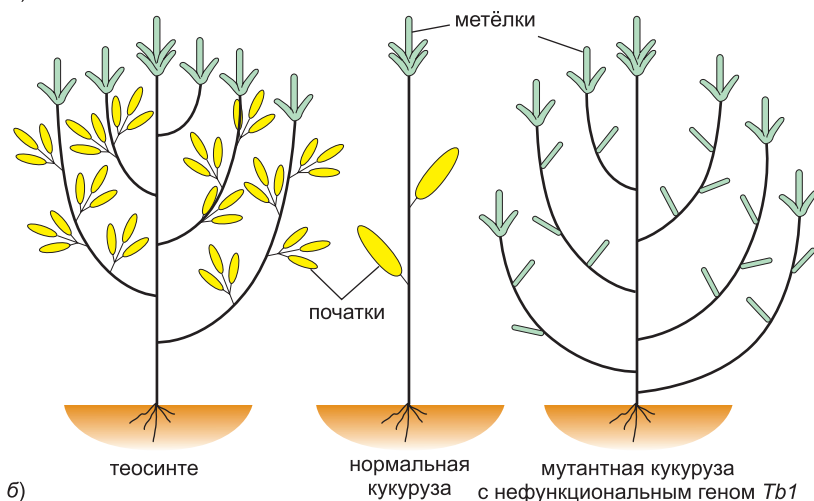
22.9.12. Переключение с вегетативного роста на цветение зависит от прошлых и настоящих внешних сигналов

Помимо выбора между покоем и ростом, осуществление которого мы уже наблюдали на примере кукурузы, меристемам приходится делать выбор по многим другим вопросам, связанным с развитием, причем нередко их решение зависит

⁷ И вывели сорт перуанской кукурузы со столь крупными зёрнами, что рядом с этим ископаемым початком на витрине музея города Куско в Перу соплodie кукурузы любого из существующих ныне сортов показалось бы присосавшемся к стеблю отряду тлей. — *Прим. перев.*



а)



б)

Рис. 22.125. Преобразование архитектуры растения мутацией: сравнение теосинте, нормальной кукурузы и дефектной по гену *Tb1* кукурузы. а) Фотографии растений трех категорий. б) Сравнение схем строения теосинте, нормальной кукурузы и дефектной по гену *Tb1* кукурузы. Продукт гена *Tb1* необходим для развития початков. Он отсутствует у мутанта по гену *Tb1*, но имеется и у теосинте, и у нормальной кукурузы, но эти два растения отличаются строением, потому что этот ген по-разному регулируется в их телах. (Фотоснимки в части а: левый снимок заимствован из J. Doebley and R. L. Wang, *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 62: 361–367, 1997. С любезного разрешения издательства Cold Spring Harbor Laboratory Press; средний и правый снимки взяты из J. Doebley, A. Stec and L. Hubbard, *Nature* 386: 485–488, 1997. С любезного разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

от сигналов окружающей среды. Наиболее важное из таких решений: переход от вегетативного роста к образованию цветка (рис. 22.126).

Переключение с меристематического роста на формирование цветка запускается целым комплексом сигналов. Растение не просто принимает во внимание

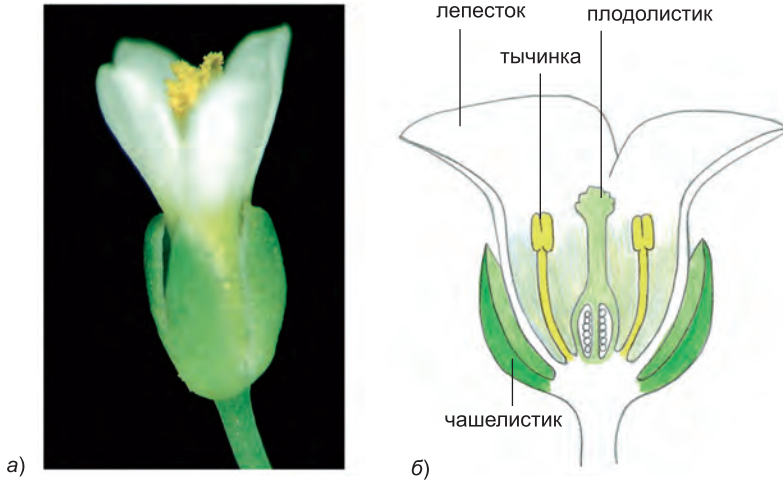


Рис. 22.126. Строение цветка *Arabidopsis thaliana*. а) Фотография. б) Схематическое представление в продольном сечении. Основное строение, как видно из схемы б, является общим для большинства цветковых двудольных растений. (Снимок а любезно предоставлен Leslie Sieburth.)

текущую температуру, освещенность и наличие питательных веществ; оно основывает свое решение расцвести также и на предшествующих условиях жизни. Для многих растений одним из важных регуляторов является длина светового дня. Чтобы почувствовать ее, растение использует свои циркадные часы — эндогенный 24-часовой цикл экспрессии генов — и вырабатывает сигнал к цветению только тогда, когда обеспечивается достаточная освещенность в течение определенного периода дня. Эти часы и сами подвержены влиянию света, так что, в сущности, растение сравнивает с их помощью условия освещенности в прошлом и в настоящем. Определены важные элементы генетической схемы, лежащей в основе этих явлений: от фитохромов и криптохромов, которые служат фоторецепторами (мы говорили о них в главе 15), до гена *Constans*, экспрессия которого в листьях растения служит сигналом к цветению. Сигнал этот, как полагают, передается от листьев к меристеме по сосудам с помощью продукта другого гена — *Flowering locus T (Ft)*, — который регулируется белком *Constans*.

Однако этот сигнал достигнет меристемы и запустит механизм перехода к цветению только в том случае, если растение находится в восприимчивом состоянии, которое, как правило, зависит от его предыстории за намного более длительный период. Многие растения зацветают лишь при том условии, что они провели достаточно долгое время на холоде: чтобы почувствовать весну и расцвести, им нужно сначала пережить зиму — этот процесс назван *яровизацией*. Длительный период холода вызывает изменения в структуре хроматина, за которые отвечает еще одна многочисленная группа генов, среди которых есть и гомологи белков группы *Polycomb*, которую мы вспоминали ранее в связи с их ролью в воспроизведении характера экспрессии генов у дрозофилы. Подобные эпигенетические изменения (обсуждавшиеся в главах 4 и 7) приводят к постепенному заглушению гена *Flowering locus C (Flc)*. Этот эффект продолжителен и длится на протяжении многих циклов деления клеток, даже когда приходит весна и начинается теплое время года. Ген *Flc* кодирует ингибитор цветения, противодействуя экспрессии и действию

гена *Ft*. Таким образом яровизация, блокируя производство ингибитора, позволяет меристеме получать сигнал *Ft* и откликаться на него включением в верхушечной меристеме экспрессии группы генов *цветочной меристемы*.

Мутации, влияющие на регуляцию экспрессии гена *Ftc*, изменяют время зацветания и, следовательно, способность растения цвести в данном климате. Отсюда видно, сколь велико значение такой системы управления переключением с вегетативного роста на цветение для растениеводства, особенно в наше время быстро меняющегося климата.

22.9.13. Род закладываемых частей цветка определяется гомеозисными селекторными генами

Включая гены цветочной меристемы, верхушечная меристема отбрасывает любую возможность продолжить вегетативный рост и сосредотачивается на производстве гамет. Ее клетки приступают к выполнению строго конечной программы роста и дифференцировки: путем модификации обычных механизмов, служащих для производства листьев, в строгом порядке образуется группа колец специализированных придатков — первыми обычно идут чашелистики, потом лепестки, затем тычинки, несущие набитые пыльцой пыльники, и, наконец, плодолистики с яйцеклетками (см. приложение 22.1). К концу этого процесса меристема исчезает, но в лице своего потомства она дает жизнь новым генеративным клеткам.

Букет видоизмененных листьев, образующих цветок, можно уподобить группе сегментов тела, из которых образуется муха. У растений, как и у мух, встречаются гомеозисные мутации, которые придают одним элементам структуры характер других. Мутантные фенотипы могут быть сгруппированы по крайней мере в четыре класса, у представителей которых видоизменяются разные, но взаимно перекрывающиеся группы органов (рис. 22.127). Примером класса «А» служит мутант арабидопсиса, названный *Apetala2*, у которого изменяются два внешних кольца: чашелистики преобразуются в плодолистики, а лепестки — в тычинки. Второй класс мутаций в генах «В», представлен мутантом *Apetala3* с характерным видоизменением двух средних колец: лепестки преобразуются в чашелистики, а тычинки — в плодолистики. Третий класс, «С», примером которого служит мутант *Agamous*, демонстрирует видоизменение двух самых внутренних колец, влекущее за собой более радикальные последствия: тычинки преобразованы в лепестки, плодолистики отсутствуют, а расположившиеся на их месте центральные клетки цветка ведут себя подобно цветочной меристеме, которая снова и снова запускает и исполняет программу развития, производя очередной неправильный набор чашелистиков и лепестков, вложенный в первый, затем другой, вложенный в этот, и так далее до бесконечности. У мутантов четвертого класса (*Sepallata*) все три внутренних кольца преобразованы в чашелистики.

Эти фенотипы являются отражением регуляторных гомеозисных генов четырех классов, которые, подобно гомеозисным селекторным генам дрозофилы, кодируют регуляторные белки. Они экспрессируются в разных областях и определяют различия в состоянии клеток, придающих разным частям нормального цветка разные признаки, как показано на рис. 22.128. Продукты этих генов взаимодействуют и образуют белковые комплексы, которые обеспечивают экспрессию соответствующих генов. У тройного мутанта — с одновременным нарушением генов класса А, В и С — вместо цветка мы получаем нескончаемую последовательность плотно вложенных одно в другое колец листьев (см. рис. 22.127, з). И наоборот, в трансгенном

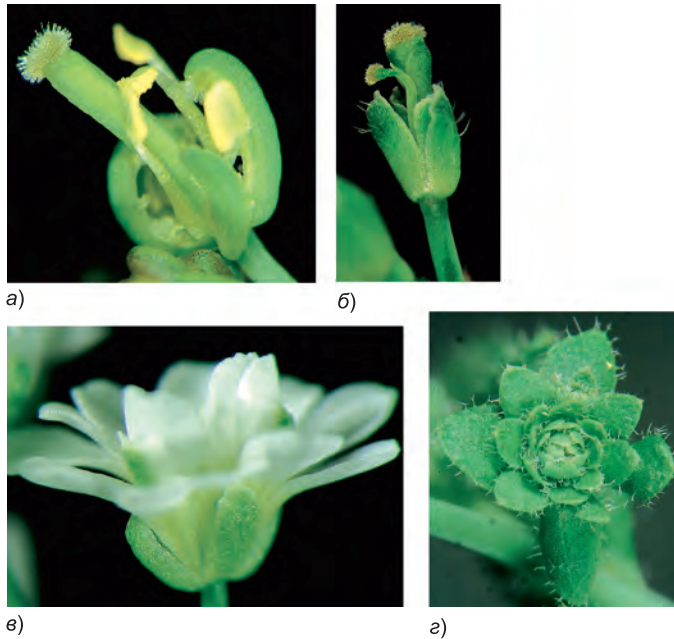


Рис. 22.127. Цветки *Arabidopsis thaliana*, показывающие подборку гомеозисных мутаций. а) У *Apetala2* чашелистики преобразуются в плодolistики, а лепестки в тычинки; б) у *Apetala3* лепестки преобразуются в чашелистики, а тычинки — в плодolistики; в) у *Agamous* тычинки преобразуются в лепестки, а плодolistики в цветочную меристему. г) У тройного мутанта, где все три функции дефектны, все органы цветка преобразуются в листья. (Снимки а–в великодушно предоставлены Leslie Sieburth; снимок г любезно прислан Mark Running.)

растения, у которого гены классов А, В и *Sepallata* совместно экспрессируются вне отведенных им областей, листья преобразуются в лепестки. Отсюда видно, что листья представляют «основное состояние», в котором ни один из этих гомеозисных селекторных генов не экспрессируется, тогда как органы всех остальных типов образуются вследствие экспрессии этих генов в различных комбинациях.

Такого рода исследования проведены с растениями других видов — найдены аналогичные наборы фенотипов и генов: растения точно так же, как и животные, обладают консервативными системами гомеозисных селекторных генов. Немалую роль в эволюции этих генов сыграли дубликации: некоторые из них, работающие в разных органах цветка, имеют явно гомологичные последовательности. Эти регуляторные белки не относятся к классу гомеобокс-содержащих транскрипционных факторов, а являются представителями другого семейства регуляторных белков (так называемого семейства MADS), обнаруженного также у дрожжей и позвоночных животных.

Ясно, что растения и животные независимо друг от друга нашли весьма сходные решения многих фундаментальных проблем развития многоклеточного организма.

Заключение

Развитие цветкового растения, как и развитие животного, начинается с деления оплодотворенной яйцеклетки, в результате которого образуется зародыш с полярной организацией: из верхушечной части зародыша сформируется

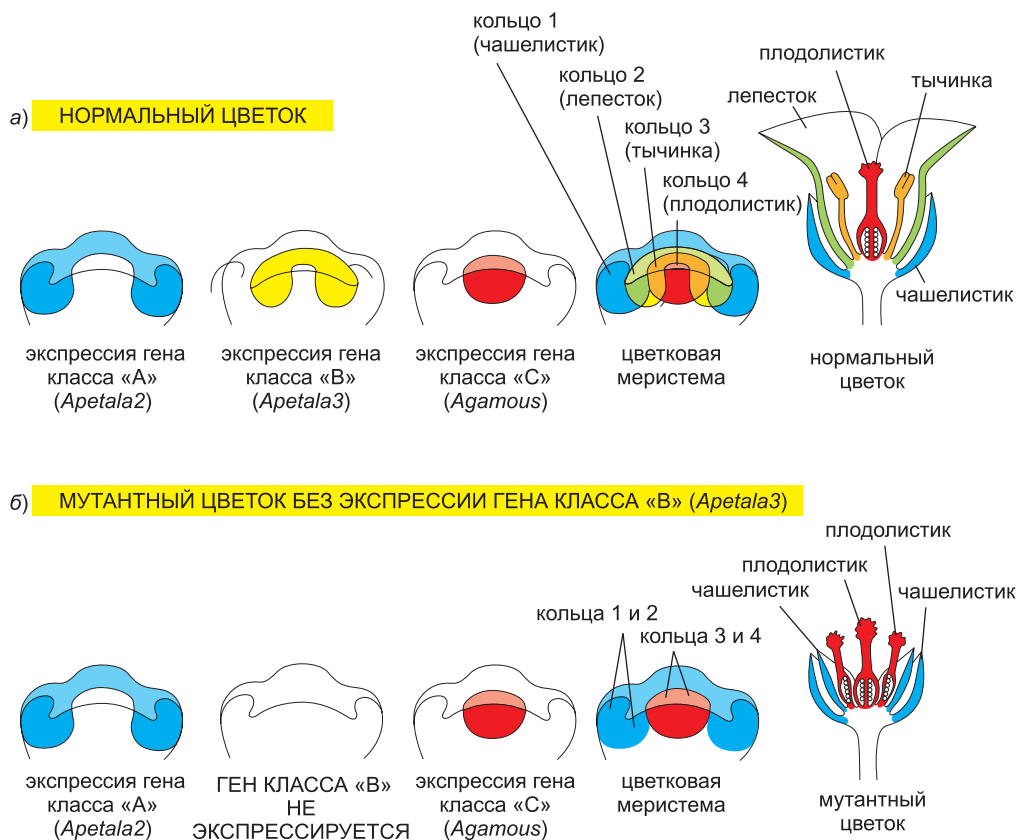


Рис. 22.128. Экспрессия гомеозисных селекторных генов в цветке арабидопсиса. а) Схема нормальных зон экспрессии трех генов, мутантные фенотипы которых представлены на рис. 22.127, а–в. Все три гена кодируют регуляторные белки. Цветная заливка на рисунке цветка показывает, какие его органы развиваются из каких колец меристемы, но отнюдь не означает, что гомеозисные селекторные гены все еще экспрессируются на этой стадии. б) Те же картины у мутанта с дефектным геном *Apeta3*. Поскольку характер органов в каждом кольце определяется группой гомеозисных селекторных генов, которые в них экспрессируются, тычинки и лепестки преобразованы в чашелистики и плодолистики. Последствия нарушения гена класса А, такого как *Apeta2*, несколько сложнее: отсутствие продукта гена класса А позволяет экспрессироваться генам класса С во внешних двух кольцах, а так же во внутренних двух, в силу чего на двух этих внешних кольцах развиваются соответственно плодолистики и тычинки. Отсутствие гена класса С не позволяет центральной области претерпеть окончательную дифференцировку в плодолистик и побуждает ее, вместо этого, продолжить меристематический рост, производя все больше и больше чашелистиков и лепестков.

побег, из основной его части — корень, а средняя часть вытянется в стебель. Сначала деление клеток происходит по всему телу зародыша. Однако, по мере того как зародыш растет, выделяются области образования новых клеток, сосредоточивающиеся в маленьких областях, называемых меристемами. Верхушечные меристемы, находящиеся на кончиках побегов и корней, сохраняются на протяжении всей жизни растения и дают ему возможность расти, последовательно добавляя новые части тела на периферии. Как правило, побег представляет собой повторяющийся ряд модулей, состоящих из стандартного

набора сегментов: стебля, листа и пазушной почки. Поляризованный транспорт ауксина управляет расположением примордиев этих структур по мере их появления в окрестности меристемы. Пазушная почка — новая потенциальная меристема, способная дать начало боковому побегу; путем регуляции активации почек окружающая среда и гормональные сигналы дальнего действия в организме самого растения могут управлять развитием растения. Мутации, влияющие на механизм активации пазушных почек, могут оказать сильное воздействие на форму и структуру всего растения; одна такая мутация — из числа примерно пяти ключевых генетических изменений такого рода — является основной причиной разительного отличия современной кукурузы от ее дикого предка теосинте.

Маленький сорняк *Arabidopsis thaliana* используется в качестве модельного организма для генетических исследований и стал первым растением, геном которого был полностью секвенирован. Как и у животных, гены, управляющие развитием растения, можно найти в ходе генетического скрининга, а их функции установлены посредством генетических манипуляций. Эти исследования проложили путь к пониманию молекулярных механизмов, которые в общих чертах и в микроскопическом масштабе размечают внутреннюю организацию каждого модуля растения за счет межклеточных взаимодействий в окрестности верхушечной меристемы. Сама меристема, по-видимому, поддерживается локальным контуром обратной связи, в котором клетки, экспрессирующие регуляторный белок *Wuschel*, обеспечивают сигнал к пролиферации, а отрицательная обратная связь, зависящая от межклеточного сигнального пути *Clavata*, не дают меристеме разрастаться до слишком больших размеров.

Факторы внешней среды, в особенности длина светового дня, могут индуцировать экспрессию генов, которые переключают поведение верхушечной меристемы с образования листьев на формирование цветков. Части цветка — его чашелистики, лепестки, тычинки и плодолистики — образуются путем разных модификаций механизма, в простейшем своем виде служащего для развития листьев, при этом различия между этими органами задают гомеозисные селекторные гены, которые являются близкими аналогами (хотя и не гомологами) гомеозисных генов животных.

Литература

Общая

Carroll S. B., Grenier J. K. & Weatherbee S. D. (2004) From DNA to Diversity: Molecular Genetics and the Evolution of Animal Design, 2nd ed. Maiden, MA: Blackwell Science.

Gilbert S. F. (2006) Developmental Biology, 8th ed. Sunderland, MA: Sinauer.

Nusslein-Volhard C. (2006) Coming to Life: How Genes Drive Development. London: Yale University Press.

Wolpert L., Jessell T. M., Lawrence P. et al. (2006) Principles of Development, 3rd ed. Oxford: Oxford University Press.

Универсальные механизмы развития животных

Gilbert S. F. & Raunio A. M. (eds.) (1997) Embryology: Constructing The Organism. Sunderland, MA: Sinauer.

Giraldez A.J., Cinalli R.M., Glasner M.E. et al. (2005) MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish. *Science* 308: 833–838.

Lander A.D. (2007) Morpheus unbound: reimagining the morphogen gradient. *Cell* 128: 245–256.

Meinhardt H. & Gierer A. (2000) Pattern formation by local self-activation and lateral inhibition. *BioEssays* 22: 753–760.

Spemann H (1938) Embryonic Development and Induction. New Haven: Yale University Press. Reprinted 1988, New York: Garland Publishing.

Tyson J.J., Chen K.C. & Novak B. (2003) Sniffers, buzzers, toggles and blinkers: dynamics of regulatory and signaling pathways in the cell. *Curr. Opin. Cell Biol.* 15: 221–231.

Caenorhabditis elegans: развитие с точки зрения отдельной клетки

Girard L.R., Fiedler T.J., Harris T.W. et al. (2007) WormBook: the online review of *Caenorhabditis elegans* biology. *Nucleic Acids. Res.* 35: D472–475.

Harris W.A. & Hartenstein V. (1991) Neuronal determination without cell division in *Xenopus* embryos. *Neuron* 6: 499–515.

Kamath R.S., Fraser A.G., Dong Y. et al. (2003) Systematic functional analysis of the *Caenorhabditis elegans* genome using RNAi. *Nature* 421: 231–237.

Lyczak R., Gomes J.E. & Bowerman B. (2002) Heads or tails: cell polarity and axis formation in the early *Caenorhabditis elegans* embryo. *Dev. Cell* 3: 157–166.

Metzstein M.M., Stanfield G.M. & Horvitz H.R. (1998) Genetics of programmed cell death in *C. elegans*: past, present and future. *Trends Genet.* 14: 410–416.

Pasquinelli A.E., Reinhart B.J., Slack F. et al. (2000) Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature* 408: 86–89.

Strome S. & Lehmann R. (2007) Germ versus soma decisions: lessons from flies and worms. *Science* 316: 392–393.

Дрозофила и молекулярная генетика образования тканевых структур: формирование общего плана строения тела

Bate M. & Martinez Arias A. (eds.) (1993) The Development of *Drosophila melanogaster*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Gregor T., Bialek W., de Ruyter van Steveninck R.R., Tank D.W. & Wieschaus E.F. (2005) Diffusion and scaling during early embryonic pattern formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 18403–18407.

Huynh J.R. & St. Johnston D. (2004) The origin of asymmetry: early polarisation of the *Drosophila* germline cyst and oocyte. *Curr. Biol.* 14: R438–449.

Lawrence P.A. (1992) The Making of a Fly: The Genetics of Animal Design. Oxford: Blackwell Scientific.

Nusslein-Volhard C. & Wieschaus E. (1980) Mutations affecting segment number and polarity in *Drosophila*. *Nature* 287: 795–801.

Peel A.D., Chipman A.D. & Akam M. (2005) Arthropod segmentation: beyond the *Drosophila* paradigm. *Nature Rev. Genet.* 6: 905–916.

Stathopoulos A. & Levine M. (2004) Whole-genome analysis of *Drosophila* gastrulation. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14: 477–484.

Гомеозисные избирательные гены и формирование передне-задней оси

Lemons D. & McGinnis W. (2006) Genomic evolution of Hox gene clusters. *Science* 313: 1918–1922.

Lewis E.B. (1978) A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature* 276: 565–570.

McGinnis W., Garber R.L., Wirz J. et al. (1984) A homologous protein-coding sequence in *Drosophila* homeotic genes and its conservation in other metazoans. *Cell* 37: 403–408.

Ringrose L. & Paro R. (2007) Polycomb/Trithorax response elements and epigenetic memory of cell identity. *Development* 134: 223–232.

Wellik D.M. & Capecchi M.R. (2003) Hox 10 and Hox 11 genes are required to globally pattern the mammalian skeleton. *Science* 301: 363–367.

Органогенез и оформление придатков

Bellaiche Y. & Schweisguth F. (2001) Lineage diversity in the *Drosophila* nervous system. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11: 418–423.

Betschinger J. & Knoblich J.A. (2004) Dare to be different: asymmetric cell division in *Drosophila*, *C. elegans* and vertebrates. *Curr. Biol.* 14: R674–685.

Betschinger J., Mechtler K. & Knoblich J.A. (2006) Asymmetric segregation of the tumor suppressor brat regulates self-renewal in *Drosophila* neural stem cells. *Cell* 124: 1241–1253.

Irvine K.D. & Rauskolb C. (2001) Boundaries in development: formation and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 189–214.

Harvey K. & Tapon N. (2007) The Salvador-Warts-Hippo pathway — an emerging tumour-suppressor network. *Nature Rev. Cancer.* 7: 182–191.

O'Farrell P. (2004). How metazoans reach their full size : the natural history of bigness, In Cell Growth: The Control of Cell Size, MN Hall et al., eds. (Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press), pp. 1–22.

Panganiban G., Irvine S.M., Lowe C. et al. (1997) The origin and evolution of animal appendages. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 5162–5166.

Rogulja D. & Irvine K.D. (2005) Regulation of cell proliferation by a morphogen gradient. *Cell* 123: 449–461.

Tickle C. (2003) Patterning systems—from one end of the limb to the other. *Dev. Cell* 4: 449–458.

Перемещение клеток и формирование тела позвоночного животного

David N.B., Sapede D., Saint-Etienne L. et al. (2002) Molecular basis of cell migration in the fish lateral line: role of the chemokine receptor CXCR4 and of its ligand, SDF1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 16297–16302.

Heasman J. (2006) Maternal determinants of embryonic cell fate. *Semin. Cell Dev. Biol.* 17: 93–98.

Hirokawa N., Tanaka Y., Okada Y. & Takeda S. (2006) Nodal flow and the generation of left-right asymmetry. *Cell* 125: 33–45.

Kalcheim C. & Le Douarin N.M. (1999) The Neural Crest, 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press.

Lewis J. (2003) Autoinhibition with transcriptional delay: a simple mechanism for the zebrafish somitogenesis oscillator. *Curr. Biol.* 13: 1398–1408.

Pourquie O. (2003) The segmentation clock: converting embryonic time into spatial pattern. *Science* 301: 328–330.

Raz E. (2004) Guidance of primordial germ cell migration. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 169–173.

Schier A.F. (2007) The maternal-zygotic transition: death and birth of RNAs. *Science* 316: 406–407.

Tabin C.J. (2006) The key to left-right asymmetry. *Cell* 127: 27–32.

Takeichi M., Nakagawa S., Aono S. et al. (2000) Patterning of cell assemblies regulated by adhesion receptors of the cadherin superfamily. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 355: 885–890.

Мышь

Ghabrial A., Luschnig S., Metzstein M.M. & Krasnow M.A. (2003) Branching morphogenesis of the Drosophila tracheal system. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 19: 623–647.

Hogan B.L. & Kolodziej P.A. (2002) Organogenesis: molecular mechanisms of tubulogenesis. *Nature Rev. Genet.* 3: 513–523.

Larsen W.J. (2001) Human Embryology, 3rd ed.: Churchill Livingstone.

Lu C.C., Brennan J. & Robertson E.J. (2001) From fertilization to gastrulation: axis formation in the mouse embryo. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 11: 384–392.

Smith A.G. (2001) Embryo-derived stem cells: of mice and men. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 435–462.

Weaver M., Dunn N.R. & Hogan B.L. (2000) Bmp4 and Fgf10 play opposing roles during lung bud morphogenesis. *Development* 127: 2695–2704.

Zemicka-Goetz M. (2006) The first cell-fate decisions in the mouse embryo: destiny is a matter of both chance and choice. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 16: 406–412.

Развитие нервной системы

Bi G. & Poo M. (2001) Synaptic modification by correlated activity: Hebb's postulate revisited. *Annu. Rev. Neurosci.* 24: 139–166.

Flanagan J.G. (2006) Neural map specification by gradients. *Curr. Opin. Neurobiol.* 16: 59–66.

Hubel D.H. & Wiesel T.N. (1965) Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. *J. Neurophysiol.* 28: 1041–1059.

Kandel E.R., Schwartz J.H. & Jessell T.M. (2000) Principles of Neural Science, 4th ed. New York: McGraw-Hill.

Nagerl U.V., Eberhom N., Cambridge S.B. & Bonhoeffer T. (2004) Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron* 44: 759–767.

Pearson B.J. & Doe C.Q. (2004) Specification of temporal identity in the developing nervous system. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20: 619–647.

Sanes D.H., Reh T.A. & Harris W.A. (2000) Development of the Nervous System. San Diego: Academic Press.

Tessier-Lavigne M. (2002) Wiring the brain: the logic and molecular mechanisms of axon guidance and regeneration. *Harvey Lect.* 98: 103–143.

Waites C.L., Craig A.M. & Garner C.C. (2005) Mechanisms of vertebrate synaptogenesis. *Annu. Rev. Neurosci.* 28: 251–274.

Wang G.X. & Poo M.M. (2005) Requirement of TRPC channels in netrin-1-induced chemotropic turning of nerve growth cones. *Nature* 434: 898–904.

Zou Y., Stoeckli E., Chen H. & Tessier-Lavigne M. (2000) Squeezing axons out of the gray matter: a role for slit and semaphorin proteins from midline and ventral spinal cord. *Cell* 102: 363–375.

Развитие растений

Baurle I. & Dean C. (2006) The timing of developmental transitions in plants. *Cell* 125: 655–664.

Doebley J., Stec A. & Hubbard L. (1997) The evolution of apical dominance in maize. *Nature* 386: 485–488.

Heisler M.G., Ohno C., Das P. et al. (2005) Patterns of auxin transport and gene expression during primordium development revealed by live imaging of the Arabidopsis inflorescence meristem. *Curr. Biol.* 15: 1899–1911.

Howell S.H. (1998) *Molecular Genetics of Plant Development*. Cambridge: Cambridge University Press.

Jack T. (2001) Relearning our ABCs: new twists on an old model. *Trends Plant Sci.* 6: 310–316.

Schoof H., Lenhard M., Haecker A. et al. (2000) The stem cell population of Arabidopsis shoot meristems is maintained by a regulatory loop between the CLAVATA and WUSCHEL genes. *Cell* 100: 635–644.

Специализированные ткани, стволовые клетки и обновление тканей

Клетки, существовавшие на заре эволюции, были свободными, самодостаточными индивидуалистами, но клетки, которые имеют наибольшее значение для нас, людей, являются узкоспециализированными членами многоклеточного сообщества. Они утратили все те особенности, которые были необходимы их предкам для самостоятельного выживания, и приобрели новые свойства, которые удовлетворяют нуждам всего организма в целом. И хотя они несут в себе совершенно одинаковые копии генома, их разнообразие потрясюще велико: так, в теле человека обнаружено и охарактеризовано более 200 различных типов клеток (их полный перечень см. на нашем веб-сайте). Сотрудничая друг с другом, они образуют всевозможные ткани, в свою очередь организованные в органы, выполняющие широчайший спектр функций. Чтобы изучить жизнедеятельность клеток, недостаточно анализировать их в чашке для культивирования: нам нужно знать и то, как они живут, работают и умирают в их естественной среде обитания: в целом, активно живущем организме.

В главах 7 и 21 мы видели, как клетки различных типов начинают отличаться друг от друга еще на стадии эмбриона, и как память отдельной клетки и сигналы от окружающих ее соседей позволяют ей сохранять свои отличительные черты на протяжении всей жизни организма. В главе 19 мы обсуждали технику построения многоклеточных тканей — механизмы, которые связывают и скрепляют клетки между собой, а также внеклеточные материалы, служащие для них опорой. В этой главе мы рассмотрим функции и образ жизни специализированных клеток в организме взрослого позвоночного животного. Мы подробно опишем, как клетки работают рука об руку и совместно выполняют порученные им задачи, как рождаются новые специализированные клетки, как они живут и умирают и, наконец, как строение и контуры тканей сохраняются, несмотря на постоянную замену старых клеток новыми. В частности, мы исследуем роль *стволовых клеток* во многих тканях — клеток, специализированных на обеспечении неограниченных поставок свежих дифференцированных клеток туда, где они потеряны, отмерли за ненадобностью или востребованы в больших количествах.

Обсуждение этих тем мы сопроводим рядом примеров — одни выбраны потому, что они отображают важные общие принципы, в них используются излюбленные объекты исследования, ставят перед нашими молекулярными биологами занимательные задачи, которые им еще только предстоит решить. Наконец, мы лицом к лицу столкнемся с практическим вопросом, который лежит в основе нынешней волны интереса к стволовым клеткам: можем ли мы использовать наши знания

о процессах дифференцировки клеток и обновления тканей, чтобы превзойти природу и научиться излечивать те заболевания и восполнять те недостатки нашего тела, которые до сего времени казались неприступными?

23.1. Эпидермис и его обновление стволовыми клетками

Начнем мы наш разговор с хорошо знакомой всем ткани — кожи. Как и многие другие ткани, кожа представляет собой комплекс клеток нескольких разных типов. Чтобы исправно выполнять свою основную барьерную функцию, наружный кожный покров опирается на целый комплекс поддерживающих клеток и несущих структур, многие из которых используются и в других тканях. Коже нужна механическая опора, в значительной степени обеспечиваемая каркасом из внеклеточного матрикса, главным образом выделяемого *фибробластами*. Ей также требуется кровоснабжение для доставки питательных веществ и кислорода, а также для удаления продуктов обмена веществ и углекислого газа, и действительно, кожу пронизывает сеть кровеносных сосудов, выстланных *эндотелиальными клетками*. Эти сосуды служат также путями для защитных клеток иммунной системы: *макрофагов* и *дендритных клеток*, осуществляющих фагоцитоз вторгшихся патогенов и помогающих активизировать *лимфоциты*, а также для самих лимфоцитов, опосредующих более сложные и тонкие реакции системы приобретенного иммунитета (они будут рассмотрены в главе 24). В меньшей степени коже необходимы *нервные* волокна: для передачи сенсорной информации от ткани к центральной нервной системе и доставки сигналов в обратном направлении для секретирующих желез и сокращений гладкой мускулатуры.

На **рис. 23.1** представлено строение кожи, из которого становится ясно, каким образом она удовлетворяет всем этим требованиям. Эпителий, а именно **эпидермис**, образует наружный покров, создающий водонепроницаемый барьер, способный самовосстанавливаться и непрерывно обновляться. Под ним находится относительно толстый слой соединительной ткани, который включает плотную, жесткую, богатую коллагеном **дерму** (из нее выделяют кожу) и расположенный еще глубже жировой *подкожный слой*, или *гиподерму*. Как и в любой другой части организма, большинство общих опорных и вспомогательных функций кожи, перечисленных выше, обеспечивает соединительная ткань с пролегающими в ее толще многочисленными сосудами и нервами. Однако основным и наиболее важным компонентом кожи является эпидермис: ткань, определяющая все ее отличительные признаки, несмотря на то что она составляет лишь малую часть ее толщи. Различные придатки кожи — волосы, ногти, сальные и потовые железы — развиваются как специализированные производные эпидермиса (**рис. 23.2**). Распределение этих структур по объему кожи и характерные для них схемы роста и обновления регулируются сложными механизмами. Области менее специализированного более или менее плоского эпителия, покрывающего поверхность тела между волосными фолликулами и другими придатками, называют *межфолликулярным эпидермисом*. Он имеет простую организацию и служит неплохим примером для иллюстрации механизма непрерывного обновления тканей взрослого организма.

23.1.1. Клетки эпидермиса образуют многослойный водонепроницаемый барьер

Межфолликулярный эпидермис — слоистый (*многослойный*) эпителий, состоящий в основном из *кератиноцитов* (названных так потому, что их отличитель-

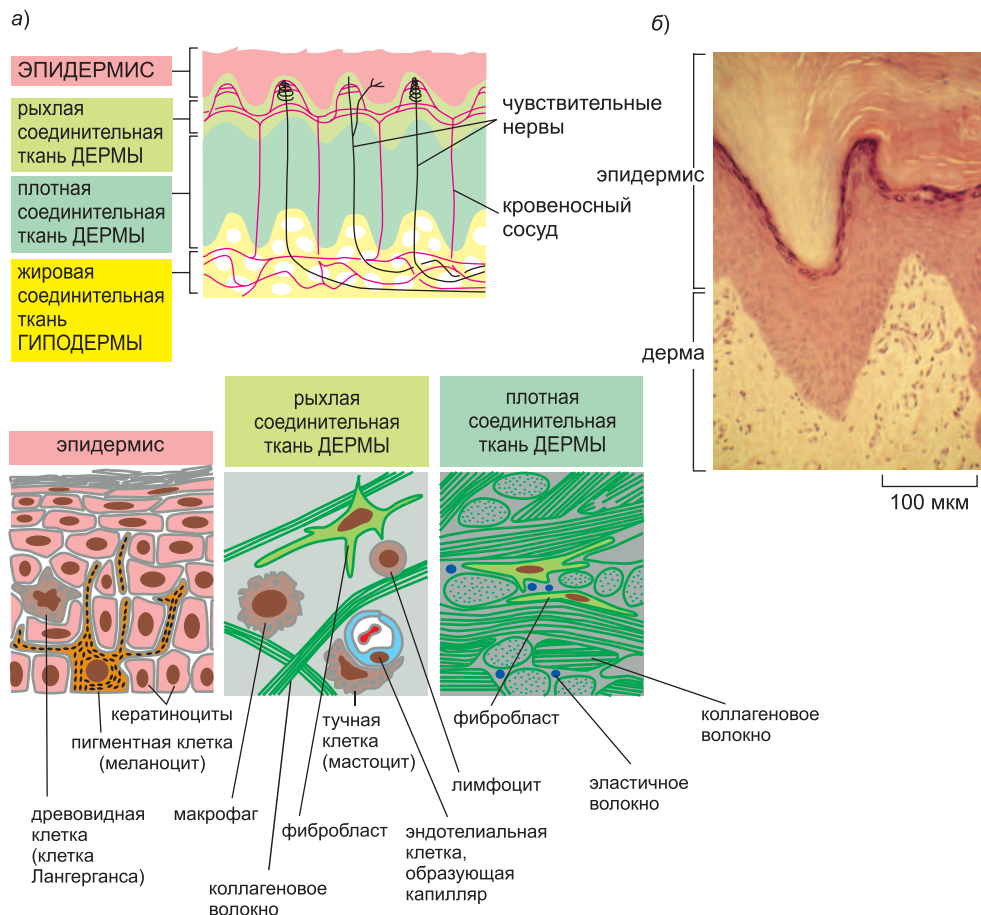
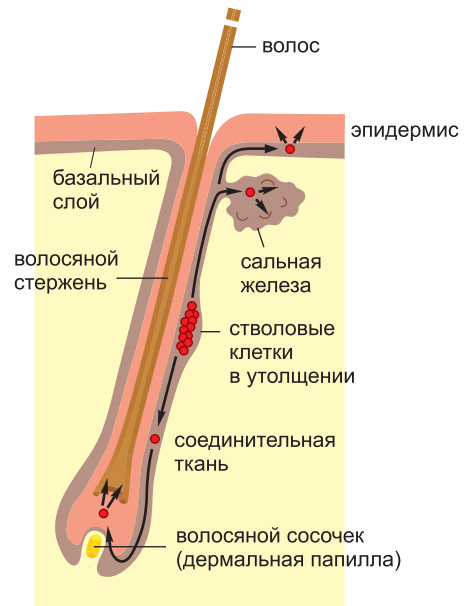


Рис. 23.1. Кожа млекопитающих. а) Схема устройства толстого участка кожи. б) Микрофотография поперечного среза подошвы стопы человека, окрашенного гематоксилином и эозином. Кожу можно рассматривать как плоский орган большой площади, сформированный из двух видов тканей: эпидермиса и залегающей под ним соединительной ткани, которая состоит из дермы и гиподермы. Каждая из этих тканей образована клетками нескольких разных типов. Дерма и гиподерма пронизаны густой сетью кровеносных сосудов и нервов, причем некоторые нервные волокна простираются и в эпидермис.

ная дифференцированная функция — синтез промежуточных кератиновых нитей, придающих эпидермису жесткость и прочность) (рис. 23.3). Эти клетки меняют свой характер от одного слоя к другому. Те, что залегают в самом глубоком слое, прилегающем к расположенной под ним базальной пластинке, называют *базальными клетками*, и обычно только эти клетки способны делиться. Над базальными клетками лежат несколько слоев более крупных *шиповатых клеток* (рис. 23.4), чьи многочисленные десмосомы, каждая из которых служит участком закрепления для толстых пучков кератиновых нитей, видны в световой микроскоп как крошечные шипики на поверхности клетки (отсюда и название). Поверх шиповатых клеток лежит тонкий слой зернистых клеток (см. рис. 23.3). Именно на этом уровне клетки плотно прижаты друг к другу и образуют водонепроницаемый барьер. Мышцы, которые ввиду генетического дефекта не в состоянии сформировать такой барьер,

Рис. 23.2. Волосной фолликул и открывающаяся в него сальная железа. Эти структуры образуются как специализированные производные эпидермиса. Волос растет вверх из волосяного сосочка в его основании. Сальная железа содержит клетки, заполненные липидом (кожным салом), который выделяется для смазки поверхности волоса. Вся эта структура в целом проходит циклы роста, регрессии (когда волос выпадает) и восстановления. Как и все остальные участки эпидермиса, она зависит от стволовых клеток, за счет которых осуществляется ее рост и перестройка в каждом таком цикле. В области так называемого утолщения, расположенного непосредственно под сальной железой, находится важная группа стволовых клеток (окрашены *красным*), способных давать начало и волосяному мешочку, и межфолликулярному эпидермису.



вскоре после рождения умирают от быстрой потери жидкости, несмотря на то что во всех остальных отношениях их кожа является совершенно нормальной.

Зернистый слой, с его барьером движению воды и растворенных в ней веществ, расположен между внутренними метаболически активными слоями и наружным слоем эпидермиса, состоящим из мертвых клеток, внутриклеточные органеллы которых исчезли. Эти внешние клетки кожи сплюсциваются до плоских *чешуек*, плотно заполненных кератином. Плазматические мембраны чешуек и внешнего слоя зернистых клеток укреплены изнутри тонким (12 нм), но жестким поперечно сшитым слоем белков, включая цитоплазматический белок, называемый инволюкрином. Сами чешуйки обычно столь плотно сжаты, что их границы трудно различить в световой микроскоп, но вымачивание в растворе гидроксида натрия (или в теплой воде) заставляет их немного набухнуть, и их контуры проявляются достаточно отчетливо (см. рис. 23.3).

23.1.2. В дифференцирующихся эпидермальных клетках по мере их созревания последовательно синтезируются различные кератины

Давайте теперь оживим эту статичную картину, чтобы изучить процесс непрерывного обновления эпидермиса. В то время как одни базальные клетки делятся, умножая свою популяцию в базальном слое, другие (их родные и двоюродные сестры) перемещаются из слоя базальных клеток в слой шиповатых клеток, делая первый шаг на своем пути во внешний мир. Когда эти клетки достигают зернистого слоя, они начинают терять свое ядро и цитоплазматические органеллы — за счет механизма деградации, в котором частично задействован аппарат апоптоза; в результате эти клетки преобразуются в ороговевшие чешуйки внешнего слоя. В конечном итоге они отшелушиваются с поверхности кожи и становятся главной составляющей домашней пыли. Время от рождения клетки в базальном слое человеческой кожи до ее утраты за счет слущивания с поверхности составляет около месяца, в зависимости от области тела.

По мере того как новый кератиноцит в базальном слое превращается в чешуйку в наружных слоях кожного покрова (см. рис. 23.4), он проходит несколько различ-

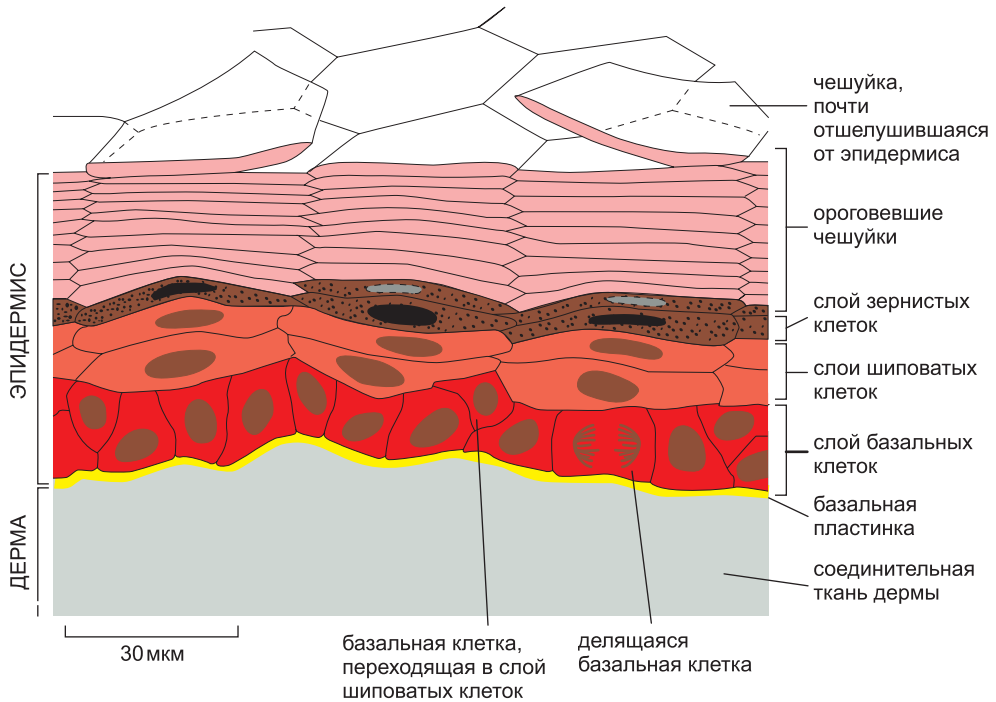


Рис. 23.3. Многослойная структура эпидермиса мыши. Показаны контуры ороговевших чешуек после их набухания в растворе, содержащем гидроокись натрия. Представленное здесь высокопорядоченное расположение столбиков взаимно переклестывающихся шестиугольных клеток встречается только в некоторых участках, где эпидермис тонок. В коже человека такие стопки чешуек обычно во много раз выше и имеют заметно менее правильную форму, а на участках очень толстой кожи митотические клетки обнаруживаются не только в базальном слое, но также и в первых слоях клеток, расположенных выше. Вместе с клетками, которые в дальнейшем ороговеют, в глубоких слоях эпидермиса немногочисленными группками обнаруживаются клетки разного типа (что показано на рис. 23.1), в том числе древовидные клетки, называемые клетками Лангерганса, происходящие из костного мозга; меланоциты (пигментные клетки), происходящие из нервного валика, и клетки Меркеля, которые связаны с нервными окончаниями в эпидермисе.



Рис. 23.4. Шиповатая клетка. На этом рисунке, сделанном на основе электронной микрофотографии среза эпидермиса, показаны пучки кератиновых нитей, пронизывающие цитоплазму и входящие в десмосомные соединения, которые связывают шиповатую клетку (окрашена красным) с ее соседями. Питательные вещества и вода свободно диффундируют через межклеточное пространство в метаболически активных слоях эпидермиса, занятых шиповатыми клетками. Ближе к поверхности, на уровне зернистых клеток, есть водонепроницаемый барьер, который, как предполагают, создается герметизирующим материалом, выделяемым зернистыми клетками. (Изображение позаимствовано из R. V. Krstić, *Ultrastructure of the Mammalian Cell: an Atlas*. Berlin: Springer-Verlag, 1979.)

ных состояний, характеризующихся экспрессией разных генов, кодирующих белки семейства кератинов. Одновременно, в соответствии с программой **терминальной дифференцировки клетки** — процесса, в ходе которого клетка-предшественница приобретает свои окончательные специализированные характеристики и, как правило, навсегда прекращает делиться, начинают синтезироваться также и другие характерные белки типа инволюкрина. Важно отметить, что программа дифференцировки запускается в базальном слое. Именно здесь и предрешаются судьбы клеток.

23.1.3. Эпидермис обновляется за счет стволовых клеток, залегающих в базальном слое

На протяжении жизни человека внешние слои эпидермиса обновляются более тысячи раз. Очевидно, в базальном слое должны находиться клетки, способные в течение всего этого периода оставаться недифференцированными и продолжать делиться, непрерывно порождая поколения дочерних клеток, которые, дифференцируясь, оставляют базальный слой и в конце своего жизненного цикла отшелушиваются с поверхности кожи. Подобный процесс может поддерживаться только в том случае, если популяция базальных клеток постоянно обновляется. Поэтому в нее должны входить некие клетки, способные как порождать дифференцирующиеся клетки, так и воспроизводить себе подобные недифференцирующиеся клетки. Обладающие таким свойством клетки называют **стволовыми клетками**. Они играют важную роль во всем многообразии тканей, поэтому уместно будет дать им формальное определение.

Итак, определяющие свойства стволовой клетки следующие.

1. Сама она не дифференцирована окончательно (то есть находится не в конце пути дифференцировки, а на промежуточном этапе, или даже вообще недифференцирована).
2. Она обладает способностью неограниченно делиться (по крайней мере в течение всей жизни организма).
3. Когда такая клетка делится, каждый ее потомок имеет выбор: или остаться стволовой клеткой, или пойти путем, который приведет к окончательной дифференцировке (**рис. 23.5**).

Стволовые клетки требуются везде, где возникает необходимость замены дифференцированных клеток, которые сами не способны делиться. Сама стволовая клетка должна быть способна делиться — это является немаловажным пунктом данного нами определения, но следует отметить, что она не обязательно должна делиться быстро; на самом деле стволовые клетки делятся относительно медленно.

Потребность в стволовых клетках возникает во многих тканях. При этом в разных тканях существуют раз-

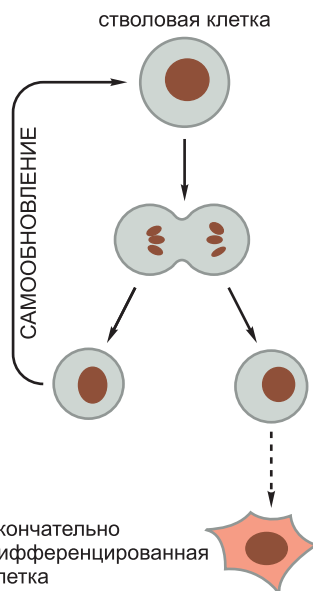


Рис. 23.5. Определение стволовой клетки. Каждая дочерняя клетка после деления стволовой клетки может или остаться стволовой, или продолжить путь к окончательной дифференцировке. Во многих случаях дочерняя клетка, выбирающая дифференцировку, претерпевает несколько дополнительных делений, прежде чем ее окончательная дифференцировка будет завершена.

личные типы специализированных стволовых клеток, служащих для воспроизводства окончательно дифференцированных клеток: эпидермальные стволовые клетки для эпидермиса, кишечные стволовые клетки для кишечного эпителия, кроветворные стволовые клетки для крови и так далее. Тем не менее эти отличные друг от друга системы стволовых клеток затрагивают одни и те же фундаментальные вопросы. Каковы отличительные особенности стволовых клеток на молекулярном уровне? От каких факторов зависит, будет ли стволовая клетка делиться или она останется в состоянии покоя? Чем определяется выбор между дальнейшей дифференцировкой и пребыванием в состоянии стволовой клетки? А в тех случаях, когда стволовая клетка может давать начало не одному, а нескольким видам дифференцированных клеток — что очень часто и происходит, — чем руководствуется дочерняя клетка в выборе дальнейшего пути дифференцировки?

23.1.4. Клеткам, образовавшимся при делении стволовой предшественницы, не всегда уготована разная участь

В нормальном состоянии для поддержания устойчивой популяции стволовых клеток требуется, чтобы в каждом поколении ровно 50% дочерних клеток оставалось стволовыми. Теоретически этого можно достичь двумя способами: через *асимметрию, зависящую от окружающей среды*, или через *асимметрию при делении* (рис. 23.6). При реализации первой стратегии деление стволовой клетки дает начало двум идентичным дочерним клеткам, судьба которых будет определяться окружением, в которое они попадут, или каким-нибудь случайным процессом с зависящей от локального окружения вероятностью; 50% популяции дочерних клеток остается стволовыми клетками, но два потомка отдельно взятой стволовой клетки в этой популяции нередко могут иметь одну и ту же судьбу. Согласно альтернативной стратегии, деление стволовых клеток всегда осуществляется строго асимметрично, в силу чего одна дочерняя клетка сохраняет характер стволовой, а на вторую клетку воздействуют факторы, побуждающие ее встать на путь дифференцировки. Нейробласты центральной нервной системы дрозофилы, рассматривавшиеся нами в главе 22, представляют пример клеток с именно такого типа асимметрией при делении. Однако подобная стратегия в ее строгой форме имеет существенный недостаток: она предполагает, что имеющиеся стволовые клетки никогда не смогут увеличить свою численность, и потому любая потеря стволовых клеток будет непоправимой, если не существует возможности превращения каких-либо других клеток в стволовые. Очевидно, что стратегия управления посредством асимметрии, зависящей от окружающей среды, является более гибкой.

Фактически если лоскут эпидермиса будет поврежден, то соседние эпидермальные клетки устранят это повреждение, мигрируя в очаг бедствия и пролиферируя, чтобы покрыть собою лишнюю область. В ходе этого процесса заново создается самообновляемый лоскут эпидермиса, а это говорит о том, что для восполнения потери произведены дополнительные стволовые клетки. Скорее всего, они появились за счет симметричных делений, при которых одна стволовая клетка дает начало двум таким же. Именно так популяция стволовых клеток регулирует свою численность, чтобы соответствовать отведенному ей объему.

Наблюдения подобного рода показывают, что поддержание характера стволовой клетки в эпидермисе может управляться контактом с базальной пластинкой: потеря контакта запускает процесс терминальной дифференцировки, а поддержание контакта служит средством сохранения потенциала стволовой клетки. Безусловно, такая

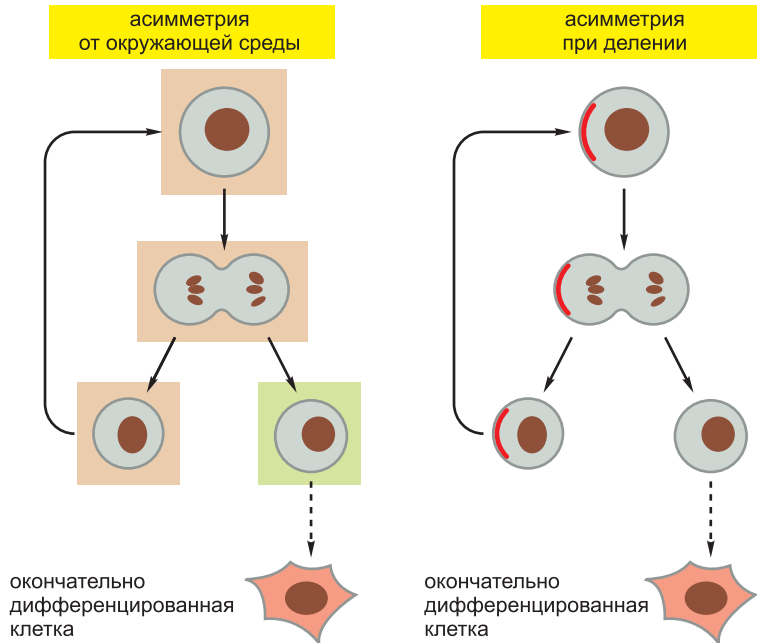


Рис. 23.6. Два возможных механизма создания стволовыми клетками дифференцированных потомков. Согласно первой стратегии, основанной на асимметрии, обусловленной окружающей средой, дочерние клетки изначально одинаковы и направляются по разным путям в зависимости от сигналов внешней среды, воздействующих на них после деления. Окружающая среда изображена окрашенным полем вокруг клетки. При такой стратегии число стволовых клеток может увеличиваться или уменьшаться, с тем чтобы прийти в соответствие с размером доступной для них соответствующей ткани. Согласно второй стратегии, основанной на ассимметричном делении, стволовая клетка изначально обладает внутренней асимметрией и делится таким образом, что две ее дочерние клетки уже наделены разными детерминантами дальнейшего развития. В некоторых случаях выбор дочерней клетки может осуществляться случайно, но с определенной вероятностью (как при подбрасывании монеты), что отражает случайный характер, или «шум», свойственный всем системам генетического управления (о чем шла речь в главе 7).

модель представляется излишне упрощенной, однако в целом верна. Как мы сейчас покажем, не все клетки базального слоя способны выступать в роли стволовых.

23.1.5. Базальный слой содержит как стволовые клетки, так и транзиторные амплифицирующиеся клетки

Базальные кератиноциты можно отделить от целого эпидермиса и выращивать в чашке для культивирования, в результате чего производятся как базальные клетки, так и терминально дифференцированные клетки. Даже в пределах популяции культивируемых базальных кератиноцитов, все из которых кажутся недифференцированными, имеет место сильная изменчивость их способности к пролиферации. Когда индивидуальные кератиноциты человека проверяют на способность к образованию новых колоний в культуре, одни оказываются вообще неспособными делиться, другие проходят только несколько циклов деления и затем останавливаются, а некоторые действительно делятся достаточное число раз, чтобы образовать большие колонии. Столь сильно различающийся потенциал пролиферации находится

в прямой зависимости от экспрессии субъединицы $\beta 1$ интегрина, который помогает кератиноциту прилипать к базальной пластинке. В базальном слое эпидермиса человека встречаются также и группы клеток с высоким содержанием этого белка, и они-то как раз и содержат в себе стволовые клетки (рис. 23.7). Мы до сих пор не имеем однозначных методов идентификации собственно стволовых клеток и не до конца понимаем, чем же определяется на молекулярном уровне состояние стволовой клетки. Это одна из основных проблем биологии стволовых клеток, и мы вернемся к этому вопросу в последующих параграфах этой главы.

Как это ни парадоксально, но оказалось, что многие, если не все, эпидермальные клетки, которые способны образовывать большие колонии в культуре, сами, как правило, делятся редко. Это отчасти подтверждают результаты экспериментов, в ходе которых молодому животному, у которого эпидермис растет быстро, или

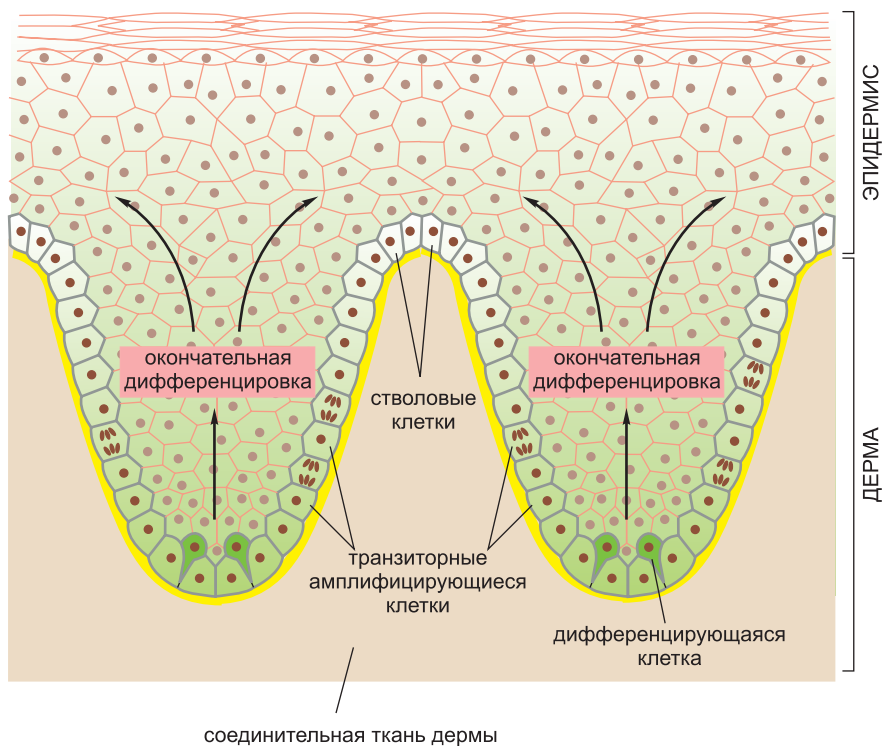


Рис. 23.7. Распределение стволовых клеток в эпидермисе человека и схема возникновения эпидермальных клеток. Данная схема составлена на основе образцов, в которых местоположение стволовых клеток установлено путем окрашивания препарата маркером β -интегрина, а области дифференцирующихся клеток — путем окрашивания маркера кератина-10 (характерного для клеток, дифференцирующихся в кератиноциты); делящиеся клетки выявлены при помощи мечения BrdU (аналогом тимидина, который включается в клетки на S-фазе цикла деления клетки). Стволовые клетки находятся возле кончиков кожных сосочков. Они делятся редко и дают начало (перемещаясь в стороны от вершины сосочка вдоль базальной мембраны) транзиторным амплифицирующимся клеткам, которые занимают промежуточные области. Транзиторные амплифицирующие клетки делятся часто, но проходят ограниченное число циклов деления, в конце которых они начинают дифференцироваться и мигрировать из базального слоя. Точное распределение стволовых клеток и транзиторных амплифицирующих клеток изменяется от одной области эпидермиса к другой. (Взято из S. Lowell et al., *Curr. Biol.* 10:491–500, 2000. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

взрослому животному после повреждения, вызывающего регенерацию ткани, дается немного аналога тимидина бромдезоксинуридина (BrdU). По прошествии дней или даже недель ткань фиксируют и окрашивают антителами, специфичными к ДНК, с включенным в нее BrdU. BrdU встраивается в ДНК всех клеток, находившихся в это время в S-фазе клеточного цикла. Поскольку BrdU, как ожидается, с течением времени будет равномерно распределяться между дочерними клетками при каждом последующем делении, можно ожидать, что те клетки, которые ко времени фиксации сохранили большое количество метки, претерпели за это время малое число делений. Такие *сохраняющие метку клетки* можно наблюдать среди немеченых или слабо меченых клеток в базальном слое эпидермиса даже по прошествии нескольких месяцев, и большое их число находится в волосяных фолликулах, в области, обозначенной утолщением на рис. 23.2. Подобные процедуры мечения показывают, что сохраняющие BrdU клетки, по крайней мере в волосяном фолликуле, являются фактически стволовыми клетками: когда после выпадения старого волоса начинается новый цикл роста, сохранившие метку клетки в утолщении начинают делиться и производят клетки, которые идут на образование нового волосяного фолликула. Хотя и неизвестно, все ли стволовые клетки волосяного фолликула делятся медленно, большая их часть совершенно точно пролиферирует крайне медленно, и то же самое, по всей видимости, верно и для стволовых клеток межфолликулярного эпидермиса. Более того, базальные клетки, экспрессирующие интегрин $\beta 1$, способные дать начало большим колониям в культуре, редко можно наблюдать делящимися.

Наряду с такими клетками встречаются и другие, которые делятся чаще, но проходят лишь ограниченное число циклов деления, после чего оставляют базальный слой и дифференцируются. Эти клетки называют **транзиторными амплифицирующимися клетками**: «транзиторными» — потому, что они находятся в состоянии перехода от стволовой клетки к дифференцированной, а «амплифицирующимися» — потому, что циклы деления, через которые они проходят, приводят к заметному увеличению числа дифференцирующихся потомков, произошедших от одной исходной стволовой клетки (рис. 23.8). Таким образом небольшая популяция стволовых клеток, делящихся очень редко, может создавать огромные количества новых дифференцированных клеток.

23.1.6. Деление транзиторных амплифицирующихся клеток — часть стратегии управления ростом

Транзиторные амплифицирующиеся клетки — характерная черта любой системы стволовых клеток. Это означает, что в большинстве таких систем имеется некоторое небольшое количество истинных стволовых клеток, перемешанных с намного более многочисленными клетками-потомками, которые обладают ограниченной способностью к пролиферации. По всей видимости, это верно не только для нормальных самообновляющихся тканей, но и для многих видов рака, когда лишь незначительное меньшинство клеток опухоли способно служить раковыми стволовыми клетками (см. главу 20). Почему это именно так и для чего это нужно? Этот вопрос не имеет однозначного ответа, но, возможно, разгадка кроется в механизме, при помощи которого у крупных животных, например млекопитающих, регулируется численность популяций образующих их клеток.

Относительные размеры частей тела в основном определяются на ранних стадиях развития организма посредством сигналов, которые работают на расстояниях не более нескольких сот диаметров клетки: для каждого будущего органа

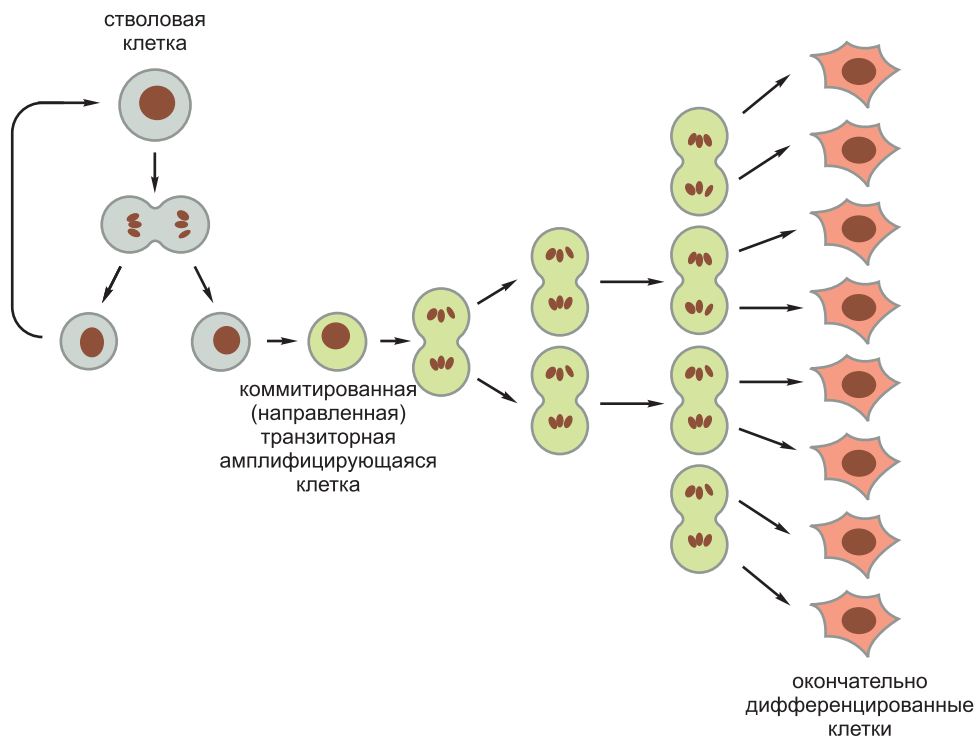


Рис. 23.8. Транзиторные амплифицирующиеся клетки. Во многих тканях стволовые клетки делятся лишь изредка, но способны давать начало транзиторным амплифицирующимся клеткам: направленным на дифференцировку дочерним клеткам, которые на пути к завершению этого процесса проходят некоторое число быстрых делений. В представленном на этом рисунке примере из одной стволовой клетки в конечном счете порождается восемь окончательно дифференцированных потомков.

или ткани они определяют границы его маленького зачатка или популяции клеток-основательниц. Затем такие обозначившиеся популяции должны разрастаться, но, по крайней мере у млекопитающих, только до некоторого определенного предела, после чего их рост прекращается.

Один из способов остановить рост по достижении определенного размера состоит в использовании сигналов обратной связи, которые во взрослом организме работают на заметно больших расстояниях; мы увидим, что такие сигналы играют важную роль в управлении ростом некоторых тканей. Другая стратегия заключается в том, чтобы заложить в каждую клетку-основательницу внутреннюю программу, в соответствии с которой клетка будет делиться ограниченное число раз и затем остановится. При этом размеры больших конечных структур организма вполне могут определяться сигналами ближнего действия в ходе его развития (рис. 23.9). Но как же тогда осуществляется непрерывное обновление ткани взрослого организма? Решить эту головоломку поможет допущение о том, что клетки-основательницы представляют собой стволовые клетки, способные продолжать неограниченно делиться, но при каждом делении производить клетки, одна из которых остается стволовой, а вторая программируется на прохождение ограниченного числа делений и последующую остановку (транзиторная амплифицирующая клетка).

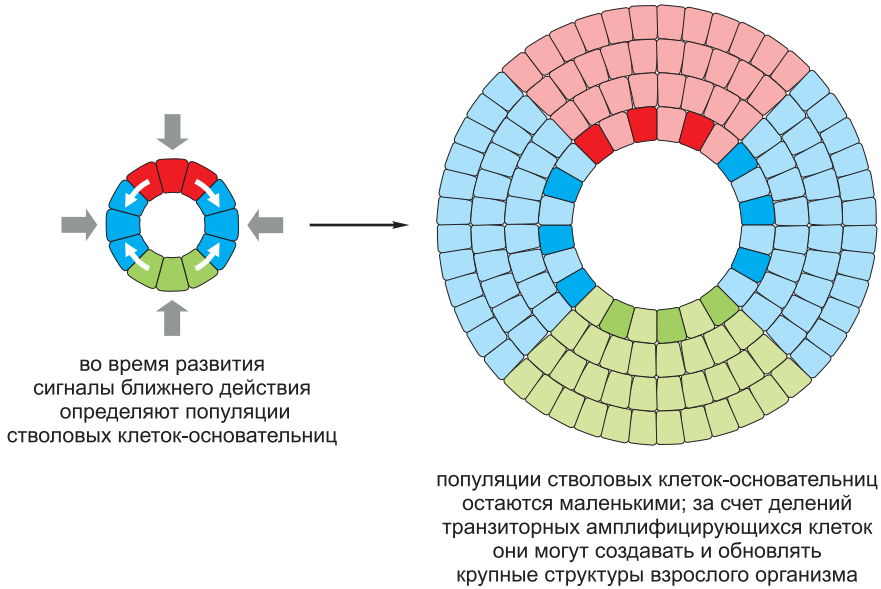


Рис. 23.9. Один из возможных способов задания размеров крупного органа. В зародыше сигналы ближнего действия определяют маленькие группы клеток как основы будущих популяций. Затем каждая клетка-основательница может быть запрограммирована на определенное число делений, в результате чего образуются многочисленные группы клеток во взрослом организме. Если взрослый орган должен обновляться, сохраняя при этом свой размер, то клетки-основательницы могут быть запрограммированы на деление по способу стволовых клеток — продуцирование при каждом делении в среднем одной дочерней клетки, которая будет оставаться стволовой клеткой, и одной дочерней транзиторной амплифицирующейся клетки, которая будет запрограммирована на прохождение заданного числа делений.

Конечно, это во многом упрощенная и неполная модель управления ростом и обновлением тканей, но она помогает объяснить, по какой причине клетки, которые запрограммированы на прохождение длинной череды делений и последующую остановку, являются обычным свойством развития животного и почему в процесс обновления тканей так часто оказываются вовлечены транзиторные амплифицирующиеся клетки.

23.1.7. Стволовые клетки некоторых тканей избирательно сохраняют исходные цепи ДНК

Во многих тканях стволовые клетки оказываются сохраняющими метку. Как мы объясняли чуть выше, проще всего объяснить это тем, что стволовые клетки, встроив индикатор типа BrdU в свою ДНК, в дальнейшем делятся редко, так что такая метка очень медленно разбавляется новосинтезируемой ДНК. Однако данному явлению может быть дана другая интерпретация¹: независимо от того, делятся ли стволовые клетки быстро или медленно, они могут передавать свои цепи ДНК дочерним клеткам асимметрично, так что при каждом делении (и для каждой хромосомы) цепь ДНК, которая первоначально помечена, будет оставаться

¹ Еще одна возможная и самая простая интерпретация этого состоит в том, что в отличие от других клеток, стволовые клетки, включившие в свою ДНК неканонический нуклеотид BrdU, испытывают проблемы при переходе к S-фазе по причине скрупулезности контроля G2S-контрольной точки клеточного цикла. То есть, сама процедура введения метки замедляет клеточный цикл стволовых клеток. — *Прим. ред.*

в дочерней клетке, которая сохранит характер стволовой. Можно предположить, что такая исходная ДНК должна иметь некоторого рода метку, обозначающую ее как ДНК стволовых клеток и гарантирующую, что она наряду со всеми несущими такие же метки цепями ДНК других хромосом будет асимметрично отделяться в ту дочернюю клетку, которая будет оставаться стволовой (см. рис. 23.6); при таком подходе старые помеченные нити передавались бы стволовыми клетками от одного поколения к другому. Такая метка могла, например, иметь форму специального кинетохорного белка, который во время репликации ДНК оставался бы связанным со старой цепью ДНК в центромерах всех хромосом, а после — участвовал бы в организации (с привнесением асимметрии) митотического веретена деления и гарантировал бы тем самым, что все отмеченные хромосомы перейдут в дочернюю клетку, остающуюся стволовой. Тогда в каждом поколении стволовых клеток одни и те же изначально несущие «стволовую метку» цепи ДНК будут служить матрицами для производства новых хромосом, предназначенных для рождения транзиторных амплифицирующихся клеток следующего поколения (рис. 23.10).²

В данной гипотезе о «вечной цепи ДНК» многое приходится принимать на веру, ибо никакого способа распознавания специфичности расхождения отдельных цепей ДНК до сих пор не обнаружено. В то же время появляется все больше данных в пользу того, что гипотеза о «вечной» ДНК верна. Одним из наиболее изученных примеров служит мышца (мы поговорим о ней позднее в этой главе). Если в культуральную среду в ходе развития мышечных стволовых клеток ввести BrdU и проследить последующую дифференцировку клеток, наблюдая за их делением и пролиферацией, то можно обнаружить небольшие группы клеток или пары сестринских клеток, в которых весь BrdU сосредоточен в одной клетке, даже при том, что все клетки имеют общее происхождение от одной-единственной предковой клетки, которая первоначально получила эту метку. Подобные наблюдения проделаны в ходе исследований стволовых клеток и других типов клеток, и, что важно, в популяциях соматических клеток, которые не содержат стволовых, такое поведение не наблюдали. Гипотеза о «вечно стволовой» цепи ДНК не только объясняет, как стволовые клетки могут сохранять меченую ДНК бесконечно долго, но также предполагает, что асимметричное деление — фундаментальное свойство стволовых клеток, из чего можно сделать вывод о том, что для увеличения числа стволовых клеток всегда необходим особый механизм для подтверждения «бессмертия» соответствующей метки на новосинтезированных цепях ДНК. Первоначально гипотезу о «вечно стволовой» цепи ДНК предложили в 1970-х в попытке объяснить, как стволовым клеткам удается избежать накопления вызывающих рак мутаций во время репликации ДНК. Снижение риска возникновения рака может быть одним из важных следствий описанного механизма.

23.1.8. Скорость деления стволовых клеток может значительно возрасти, если организму срочно нужны новые клетки

Каким бы ни был механизм поддержания характера стволовых клеток, использование возможностей транзиторных амплифицирующихся клеток дает кое-какую выгоду. Во-первых, это значит, что число стволовых клеток может быть мало, а их

² Для описанной модели асимметричной сегрегации хромосом в ходе митоза стволовых клеток характерен ряд недостатков: 1) во время S-фазы BrdU встраивается в новосинтезированные нити ДНК обеих хроматид и достается обеим дочерним клеткам, и стволовой, и не стволовой; 2) с точки зрения исходной клетки, меченая BrdU нить ДНК — новая, поэтому она не является «вечно стволовой» и не может достаться «внучатой» стволовой клетке. — *Прим. ред.*

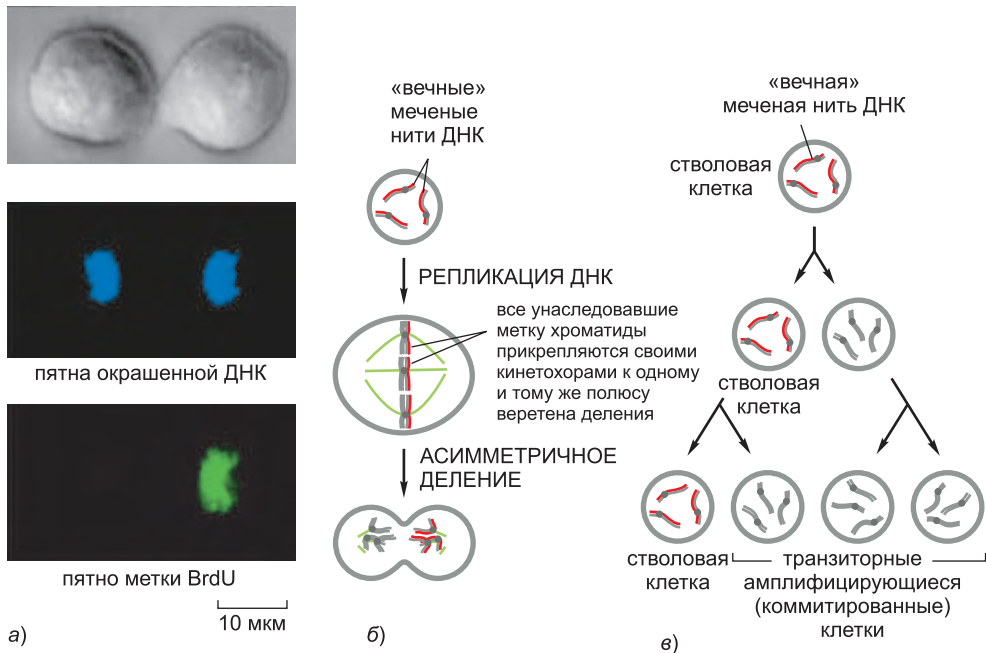


Рис. 23.10. Гипотеза о «вечно стволовой» нити. а) Экспериментальные данные. Стволовые клетки скелетной мышцы (сателлитные клетки поперечно-полосатой мышцы, которые мы обсудим позже в этой главе) культивировали в течение 4-х дней в присутствии BrdU, чтобы пометить новосинтезированные цепи ДНК. Затем клетки растили в течение суток без BrdU. На фотографиях показана пара сестринских клеток в конце этой процедуры: одна унаследовала BrdU, другая нет. Это говорит о том, что одна клетка унаследовала все те дочерние хромосомы, что несут в себе нити ДНК, синтезированные в ходе клеточных делений, которые происходили в присутствии BrdU, а другая унаследовала все те хромосомы, содержащие цепи ДНК, которые или существовали еще до введения в среду BrdU, или синтезированы уже после его удаления. Данное явление — асимметричное распределение старых и новых нитей ДНК по разным дочерним клеткам — обнаружено только в популяциях клеток, среди которых есть стволовые клетки. б) Схема наследования цепей ДНК в стволовых клетках согласно гипотезе о «вечно» нити. В каждой хромосоме стволовой клетки одна из нитей каким-то образом помечена как «вечно столовая» и остается в той дочерней клетке, которая остается стволовой. в) Такая «вечно столовая» нить ДНК остается в стволовых клетках на протяжении всех последующих клеточных поколений и используется в качестве матрицы для синтеза хромосом транзиторных амплифицирующихся клеток. (Фотоснимки заимствованы из V. Shinin, B. Gayraud-Morel, D. Gomès and S. Tajbakhsh, *Nat. Cell Biol.* 8:677–687, 2006. С любезного разрешения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

скорость деления низка, даже когда терминально дифференцированные клетки надо производить быстро и в больших количествах. Благодаря этому удается избежать накопления в стволовых клетках генетических повреждений, так как большинство мутаций происходит в ходе репликации ДНК и митоза, а мутации, возникшие в уже дифференцированных клетках, довольно быстро уничтожаются в процессе обновления ткани. Таким образом, вероятность развития рака снижается. Если гипотеза о «вечно стволовой» ДНК верна и стволовые клетки все время сохраняют исходные «вечные» цепи ДНК, риск развития опухоли еще ниже, так как большинство мутаций, привнесенных в ходе репликации ДНК, будет находиться в новосинтезируемых цепях ДНК, от которых стволовые клетки в конечном счете избавляются.

Во-вторых, что, возможно, более важно, низкая скорость деления стволовых клеток в нормальных условиях позволяет резко ее увеличить в случае крайней необходимости, например при заживлении ран. В этом случае стволовые клетки могут быть простимулированы к быстрому делению, и дополнительные циклы деления могут или привести к умножению числа самих стволовых клеток, или резко ускорить производство клеток, направленных на терминальную дифференцировку. Например, когда срезают лоскут покрытой волосами кожи, медленно делящиеся стволовые клетки в области утолщения выживших волосяных фолликулов около раны переключаются на быструю пролиферацию, и часть их потомства мигрирует в очаг поражения в качестве новых стволовых клеток для образования нового межфолликулярного эпидермиса и заживления поврежденной поверхности тела.

23.1.9. Обновлением эпидермиса управляет множество взаимосвязанных сигналов

Жизненный цикл клеток эпидермиса представляется на первый взгляд весьма нехитрым, но кажущаяся простота обманчива. В этом процессе есть много стадий, подверженных строгой регуляции в зависимости от внешних условий: скорость деления стволовых клеток; вероятность, что их потомки останутся стволовыми клетками; число клеточных делений транзиторных амплифицирующихся клеток; скорость выхода из базального слоя и время, которое после этого требуется клетке, чтобы завершить свою программу дифференцировки и отшелушиться с поверхности кожи. Регуляция всех этих процессов должна позволять эпидермису отвечать на жесткие условия внешнего мира — становиться толстым и огрубевшим, а при ранении — восстанавливаться. В специализированных областях эпидермиса (наподобие тех, что формируют волосяные фолликулы), в которых обитают присущие этим областям специфические типы стволовых клеток, для организации локальных структурных образований необходимо еще больше средств контроля и управления.

Каждый из этапов жизнедеятельности клеток эпидермиса по своему важен, и для управления поведением на каждой стадии требуется множество молекулярных сигналов — только в таком случае организм всегда будет защищен надежным кожным покровом. Как мы уже упоминали ранее, одним из важнейших сигналов является контакт с базальной пластинкой, о котором сигнализируют интегрин в плазматической мембране. Если культивируемые базальные кератиноциты поддерживать в состоянии суспензии и не давать им осесть и закрепиться на дне чашки для культивирования, то все они прекращают деление и дифференцируются. Чтобы оставаться эпидермальной стволовой клеткой, обязательно необходимо (хотя не достаточно) быть прикрепленной к базальной пластинке или к иной форме внеклеточного матрикса. Это условие не позволяет популяции стволовых клеток беспредельно увеличивать свою численность. Будучи вытесненными с базальной пластинки, клетки теряют характер стволовых. Когда этот механизм нарушается, как при некоторых формах рака, результатом может быть неконтролируемо растущая опухоль.

В управление обновлением эпидермиса, то есть в передачу сигналов между клетками собственно эпидермиса или между эпидермисом и дермой, вовлечено также и большинство прочих механизмов межклеточной связи, описанных ранее в главе 15. Сигнальные пути EGF, FGF, Wnt, Hedgehog, Notch, BMP/TGF β и интегрин — все они так или иначе участвуют в этом процессе (и мы увидим, что то же самое верно и для большинства других тканей). Например, избыточная активация пути Hedgehog может заставить эпидермальные клетки продолжать

делиться и после оставления ими базального слоя, а мутации в компонентах этого пути являются причиной многих разновидностей рака кожи. В то же время сигнальный путь Hedgehog помогает осуществлять выбор пути дифференцировки: дефицит сигналов Hedgehog влечет за собой потерю сальных желез, тогда как его избыток может привести к развитию сальных желез в тех областях организма, где в норме они не образуются. Сходным образом потеря сигнального пути Wnt ведет к невозможности развития волосяных фолликулов, в то время как чрезмерная его активация вызывает образование дополнительных волосяных фолликулов и их чрезмерный рост, как правило, дающий начало опухолям.

Сигнальный путь Notch, по всей видимости, напротив, ограничивает размер популяции стволовых клеток, не давая соседним клеткам оставаться стволовыми и заставляя их вместо этого становиться транзиторными амплифицирующимися клетками. Что касается пути TGF β , то он играет ключевую роль в передаче сигналов к дерме во время заживления ран кожи, способствуя образованию богатой коллагеном рубцовой ткани. Но надо отметить, что точные функции разных механизмов передачи сигналов, работающих в эпидермисе, до сих пор изучены не до конца.

23.1.10. Молочная железа проходит циклы развития и регрессии

В специализированных областях поверхности тела на основе зародышевого эпидермиса развиваются клетки разных типов. В частности, такие секреты, как пот, слезы, слюна и молоко вырабатываются клетками, которые залегают глубоко в толще эпидермиса, обособившись в железы. Такие эпителиальные структуры функционируют и обновляются по схемам, весьма отличным от используемых при обновлении кожи.

Из всех этих секреторных органов наиболее крупные и удивительные — молочные железы. Они есть только у млекопитающих и представляют интерес во многих отношениях: и как орган для вскармливания младенцев и привлечения противоположного пола, и как основа для молочной промышленности, и как участок для развития распространенных форм рака. Изменения в структуре ткани молочной железы происходят на протяжении всей жизни, так, что процессы развития продолжаются и во взрослом организме, а смерть клеток в результате апоптоза позволяет осуществляться циклам роста и регрессии.

Выработка молока должна включаться, когда рождается ребенок, и выключаться, когда его отнимают от груди. Во время беременности продуцирующие молоко клетки создаются; при отлучении от груди они отмирают. «Покоящаяся» взрослая молочная железа состоит из систем ветвящихся протоков, погруженных в жировую соединительную ткань; это будущая сеть каналов, по которым молоко будет подаваться к соску. Протоки выстланы эпителием, содержащим стволовые клетки молочной железы. Эти стволовые клетки могут быть идентифицированы при помощи функциональной пробы, когда клетки ткани молочной железы разобщаются, сортируются в зависимости от экспрессируемых ими маркеров клеточной поверхности и пересаживаются назад в подходящую ткань (жировое тело молочной железы). Эта процедура может продемонстрировать, что небольшая подгруппа эпителиальных клеток обладает потенциалом стволовых клеток. Любая такая клетка (примерно одна на 5000) из популяции эпителиальных клеток молочной железы, а именно из клеток, более сконцентрированных в популяции, экспрессирующей определенные маркеры, может неограниченно пролиферировать и давать начало новой полноценной молочной железе со всеми ее типами эпителиальных клеток. Такая воссоздан-

ная железа способна пройти полную программу дифференцировки, необходимую для выработки молока. На первом этапе стероидные гормоны, циркулирующие в кровотоке во время беременности (эстроген и прогестерон), побуждают клетки протоков разрастаться, и их число увеличивается в сотни раз. В ходе процесса, который зависит от местной активации сигнального пути Wnt, торцевые области протоков растут и разветвляются, образуя крошечные расширяющиеся на концах выпячивания, или альвеолы, содержащие секреторные клетки (рис. 23.11). Однако выделение молока начинается только тогда, когда эти клетки стимулируются другой комбинацией гормонов — тех, которые начинают циркулировать в организме матери после рождения ребенка, в особенности пролактином, который вырабатывается гипофизом. Пролактин связывается с рецепторами на поверхности эпителиальных клеток молочной железы и активирует путь, который включает экспрессию генов белков, входящих в состав молока. Как и в эпидермисе, здесь также необходимы сигналы от внеклеточного матрикса, опосредуемые интегринами: вырабатывающие

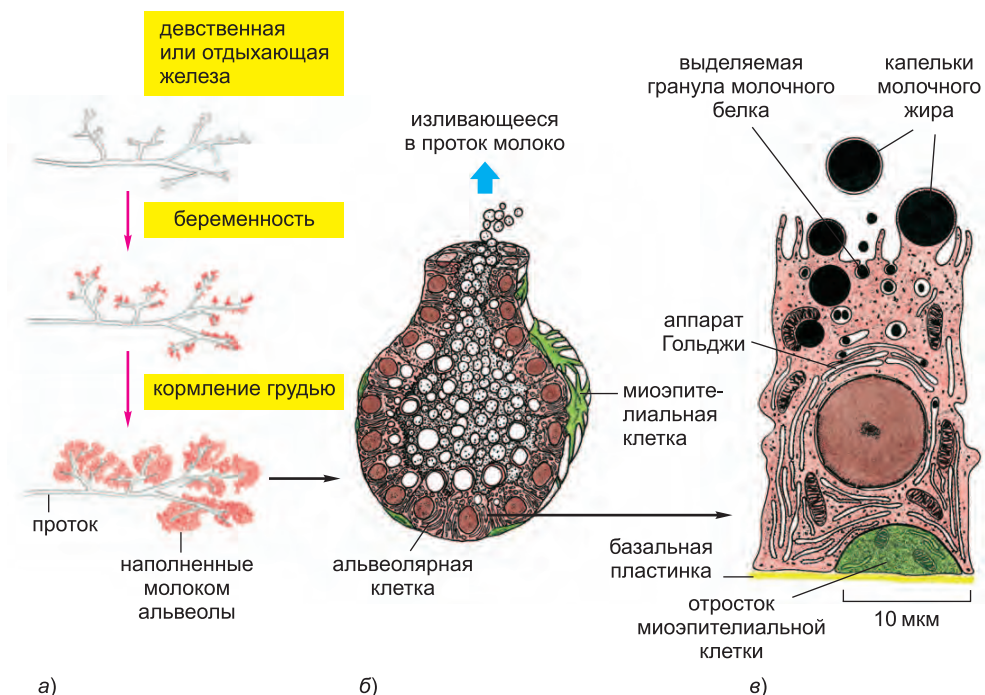


Рис. 23.11. Молочная железа. а) Рост альвеол от протоков молочной железы во время беременности и кормления грудью. Показана лишь малая часть железы. «Покоящаяся» железа содержит малое количество ткани неактивных желез, погруженной в большое количество жировой соединительной ткани. Во время беременности имеет место масштабное разрастание желез за счет жировой соединительной ткани, при этом секреторные части железы предпочтительно развиваются в создаваемые альвеолы. б) Одна из вырабатывающих молоко альвеол с оплетающей ее сеткой сократительных миоэпителиальных клеток (окрашены зеленым) (см. также рис. 23.47, д). в) Секреторные альвеолярные клетки одного и того же типа производят и молочные белки, и молочный жир. Белки обычно выделяются экзоцитозом, тогда как жир высвобождается в виде капелек, окруженных отделяющей от клетки плазматической мембраной. (Рисунок б сделан на основе R. Krstić, *Die Gewebe des Menschen und der Säugetiere*. Berlin: Springer-Verlag, 1978; изображение в заимствовано из D. W. Fawcett, *A Textbook of Histology*, 12th ed. New York: Chapman and Hall, 1994.)

молоко клетки могут реагировать на пролактин только в том случае, если они находятся в контакте с базальной пластинкой. Следующее звено в цепи гормонального контроля управляет непосредственным выделением молока из груди: стимул от грудного вскармливания (сосания) заставляет клетки гипоталамуса (в головном мозге) секретировать гормон *окситоцин*, который распространяется по кровотоку и воздействует на *миоэпителиальные клетки*. Эти клетки подобны мышечным; они происходят из той же популяции эпителиальных клеток-предшественниц, что и секреторные клетки молочной железы, и имеют длинные, напоминающие паучьи лапы отростки, оплетающие альвеолы. В ответ на окситоцин они сокращаются и тем самым «выдавливают» молоко из альвеол в протоки.

Рано или поздно, когда ребенка отнимают от груди и грудное вскармливание прекращается, секреторные клетки отмирают в результате апоптоза, и большинство альвеол исчезает. Макрофаги быстро фагоцитируют мертвые клетки, а металлопротеиназы матрикса осуществляют деградацию избыточного внеклеточного матрикса и железа возвращается в состояние покоя. Похоже, что окончание выделения молока регулируется его накоплением, а не каким-либо гормональным механизмом. Если перекрыть одну группу протоков молочной железы, так, чтобы из них не могло вытекать молоко, то секреторные клетки, «обслуживающие» эти протоки, совершают «массовое самоубийство» в результате апоптоза, в то время как другие области этой же железы продолжают нормально функционировать. Программа апоптоза запускается сложной совокупностью факторов, которые накапливаются в тех местах, где выделение молока блокируется.

Деление клеток в растущей молочной железе регулируется не только гормонами, но также и локальными сигналами, передающимися между клетками эпителия, а также между эпителиальными клетками и соединительной тканью, или *стромой*, в которую эти эпителиальные клетки погружены. Все сигналы, упоминавшиеся выше как важные для управления круговоротом клеток в эпидермисе, вовлечены также и в управление событиями в молочной железе. И вновь критическую роль играют сигналы, передаваемые через интегрин: лишенные контактов с базальной пластинкой, эпителиальные клетки оказываются не в состоянии нормально реагировать на гормональные сигналы. Ошибки в таких системах взаимной регуляции приводят к некоторым из самых распространенных форм рака, и мы должны изучить их намного лучше, чем знаем сейчас.

Заключение

Кожа состоит из жесткой соединительной ткани — дермы, покрытой сверху многослойным водонепроницаемым эпителием — эпидермисом. Эпидермис непрерывно обновляется стволовыми клетками с полным циклом оборота порядка месяца (у человека). По своему определению стволовые клетки не дифференцированы окончательно и сохраняют способность делиться в течение всей жизни организма, порождая и таких потомков, которые дифференцируются, и таких, которые остаются стволовыми. Эпидермальные стволовые клетки расположены в базальном слое и прикреплены к базальной пластинке; при нормальных условиях скорость их деления низка. Те их потомки, которые направляются на дифференцировку, проходят стадию размножения путем быстрых делений в базальном слое, а затем прекращают делиться и перемещаются в направлении поверхности кожи. Они последовательно дифференцируются, переключаясь с экспрессии одной группы кератинов на другую, пока в конечном счете их ядра

не вырождаются, и тогда они переходят в наружный слой мертвых ороговевших клеток, которые непрерывно отшелушиваются с поверхности кожи.

Судьба дочерних клеток любой стволовой клетки зависит от опосредуемого интегринами взаимодействия с базальной пластинкой и от сигналов, посылаемых соседними клетками. Наряду с этим, стволовые клетки некоторых типов могут быть изначально запрограммированы на асимметричное деление, чтобы каждый раз порождать одну дочернюю клетку, остающуюся стволовой, и одну, направленную на терминальную дифференцировку; в этом может участвовать механизм регулируемой передачи первоначальных «вечно стволовых» цепей ДНК в те дочерние клетки, которые остаются стволовыми. Однако во время процессов заживления регуляторные сигналы, поступающие из окружающей среды, позволяют производить сразу две стволовые клетки из одной и могут приводить к резкому увеличению скорости деления стволовых клеток. Такие факторы, как сигнальные белки *Wnt* и *Hedgehog*, не только регулируют скорость пролиферации клеток в зависимости от потребностей организма, но могут также управлять специализацией эпидермальных клеток с целью формирования таких структур, как волосные фолликулы и сальные железы.

Эти и другие сообщающиеся с эпидермисом органы, такие как, скажем, молочные железы, имеют свои собственные стволовые клетки и свои собственные отличительные механизмы оборота клеток. В молочной железе, например, циркулирующие в кровотоке гормоны стимулируют клетки к пролиферации, дифференцировке и образованию молока; прекращение вскармливания грудью в результате накопления комбинации факторов в местах, где нарушен отток молока, запускает в вырабатывающих молоко клетках программу апоптоза.

23.2. Нейроэпителий

Мы чувствуем запахи, слышим звуки и созерцаем достопримечательности окружающего нас мира благодаря специализированным эпителиальным тканям другого класса, покрывающим внутренние поверхности нашего тела. Чувствительные ткани носа, ушей и глаз, а фактически, если проследить этапы развития эмбриона, и вся центральная нервная система происходят от одного и того же пласта клеток, *эктодермы*, которая дает начало эпидермису. Эти структуры имеют несколько общих особенностей строения, а их развитием управляют родственные системы генов (о чем написано в главе 22). Все они сохраняют эпителиальную организацию, но она сильно отличается от таковой обычного эпидермиса или желез, являющихся его производными.

Нос, ухо и глаз — сложные органы с хитрыми устройствами для получения сигналов из внешнего мира и передачи их, отфильтрованных от «шума» и усиленных, нейроэпителию, где они могут воздействовать на нервную систему. Ключевой компонент всех органов чувств — нейроэпителий, хотя он и составляет лишь малую их долю по сравнению со всем вспомогательным аппаратом. Организация нейроэпителия и регулирующие его развитие и работу механизмы оказались чрезвычайно консервативны в ходе эволюции, не только при переходе от одного позвоночного к другому, но также и на пути между позвоночными и беспозвоночными.

В нейроэпителии любого вида находятся специальные клетки, которые действуют как первичные *преобразователи*, или *трансдукторы*, преобразующие сигналы из внешнего мира в электрическую форму, в которой нервная система способна их воспринимать. В носовой полости чувствительными преобразователями служат обо-

нительные чувствительные, или *афферентные*, нейроны, в ушной — *слуховые волосковые клетки*, а в глазах — *фоторецепторы*. Клетки всех этих типов являются или нейронами, или нейроноподобными клетками. Каждая такая клетка имеет на своем верхнем конце специализированную структуру, которая воспринимает внешний раздражитель и преобразует его в изменение мембранного потенциала. На своем базальном конце такая клетка образует синапсы с нейронами, которые передают сенсорную информацию к определенным участкам головного мозга.

23.2.1. Обонятельные нейроны постоянно заменяются

В обонятельном эпителии носовой полости (рис. 23.12, а) определенная подгруппа эпителиальных клеток дифференцируется в **обонятельные нейроны**. Эти клетки несут на своей обращенной наружу поверхности видоизмененные реснички, способные самостоятельно двигаться реснички (см. рис. 15.46), содержащие белки обонятельных рецепторов, а на своих базальных концах — одиночные аксоны, ведущие к головному мозгу (рис. 23.12, б). *Опорные клетки* проходят через всю толщу эпителия и выполняют функции, аналогичные таковым для глиальных клеток центральной нервной системы: они удерживают нейроны на месте и отделяют их друг от друга. Чувствительные поверхности поддерживаются увлажненными и защищены слоем слизи, выделяемой клетками специальных желез. Однако даже

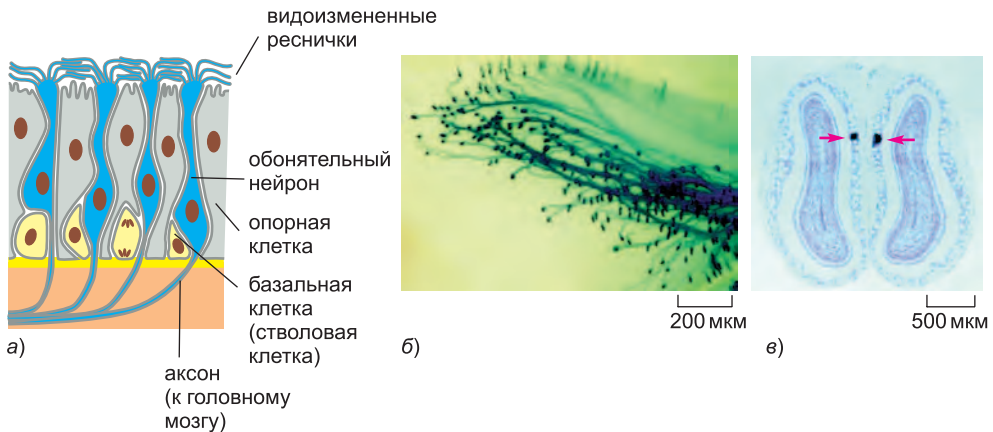


Рис. 23.12. Обонятельный эпителий и обонятельные нейроны. а) Обонятельный эпителий состоит из опорных клеток, базальных клеток и обонятельных чувствительных нейронов. Базальные клетки — стволовые клетки для производства обонятельных нейронов. На верхушке обонятельного нейрона находится от шести до восьми видоизмененных ресничек, содержащих рецепторы запахов. б) На этой фотографии показаны обонятельные нейроны в носу генетически модифицированной мыши, у которой в локус обонятельного рецептора вставлен ген *LacZ*, так что все клетки, которые в норме экспрессируют этот специфический рецептор, теперь синтезируют также и фермент β-галактозидазу. β-галактозидаза обнаруживается по окрашенному в синий цвет продукту ферментативной реакции, которую она катализирует. Тела (окрашены *темно-синим*) помеченных обонятельных нейронов, рассеянных в обонятельном эпителии, посылают свои аксоны (окрашены *светло-синим*) к головному мозгу (от картинки направо). в) Поперечный срез *левой* и *правой* обонятельных луковиц, окрашенных на β-галактозидазу. Аксоны всех обонятельных нейронов, экспрессирующих один и тот же обонятельный рецептор, сходятся в одних и тех же гломерулах (*красные стрелки*), симметрично расположенных внутри луковиц на *правой* и *левой* сторонах головного мозга. Другие гломерулы (не окрашены) получают сигналы от обонятельных нейронов, экспрессирующих другие обонятельные рецепторы. (Снимки б и в позаимствованы из P. Mombaerts et al., *Cell* 87:675–686, 1996. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

при такой защите обонятельные нейроны живут лишь один-два месяца, так что для поддержания популяции обонятельных нейронов в эпителии присутствуют еще и клетки третьего класса: *базальные клетки*. Популяция базальных клеток, находящихся в контакте с базальной пластинкой, содержит стволовые клетки для производства необходимых нейронов.

Как показано в главе 15, в геноме содержится на удивление большое число генов обонятельных рецепторов — приблизительно 1000 у мыши или собаки и примерно 350 (не считая множество выродившихся и функционально неактивных) у человека. По всей видимости, каждый обонятельный нейрон экспрессируется только одним из этих генов, что позволяет клетке реагировать на пахучие вещества только одного определенного класса (обычно это небольшие органические молекулы), имеющие некоторую общую структурную особенность, которую и распознает белок обонятельного рецептора. Но, независимо от природы запаха, каждый обонятельный нейрон реагирует на него одинаково: он запускает цепочку биоэлектрических сигналов назад по своему аксону в мозг. Поэтому избирательная восприимчивость каждого отдельно взятого обонятельного нейрона имеет смысл только в том случае, если его аксон передает информацию только лишь определенной ретрансляционной станции в мозге, настроенной на специфический диапазон ароматов, которые этот нейрон ощущает. Такие ретрансляционные станции называют *гломерулами*, или *клубочками*. Они расположены в структурах, называемых обонятельными луковицами (по одной в каждом полушарии мозга), с приблизительно 1800 гломерулами в каждой луковице (у мыши). Обонятельные нейроны, экспрессирующие рецепторы, распознающие один и тот же запах, широко рассеяны по обонятельному эпителию, но все их аксоны сходятся в одну гломерулу (рис. 23.12, в). По мере того как рождаются новые обонятельные нейроны, заменяя те, которые умирают, они должны в свою очередь направлять свои аксоны в соответствующую им гломерулу. Таким образом, белки обонятельных рецепторов имеют вторую функцию: направление растущих концов новых аксонов по определенным путям к нужным целевым гломерулам в обонятельных луковицах. Если бы не непрерывное действие этой системы наведения, то радующая нас своим благоуханием роза один месяц источала бы аромат лимона, другой — пахла бы гнилой рыбой.

23.2.2. Слуховые волосковые клетки должны сохраняться на протяжении всей жизни организма

Из всех тканей организма слуховой нейроэпителий обладает наиболее сложной и тонко организованной структурой (рис. 23.13). Его сенсорные клетки — **слуховые волосковые клетки** — удерживаются в жестком каркасе из опорных клеток и покрыты сверху массивом внеклеточного матрикса (покровной мембраной) в структуре, называемой *Кортиевым органом*. Волосковые клетки преобразуют механические раздражения в электрические сигналы. Каждая из этих клеток имеет на своей поверхности характерный пучок гигантских микроворсинок (называемых *стереоцилиями*), выступающих из ее мембраны наподобие волос (отсюда и название). Стереоцилии укреплены изнутри поперечными актиновыми нитями и расположены рядами в зависимости от длины. Размеры каждого такого массива заданы с чрезвычайной точностью в зависимости от расположения волосковой клетки в ухе и частоты звука, на который она должна реагировать. Звуковые колебания раскачивают Кортиев орган, вынуждая пучки стереоцилий наклоняться (рис. 23.14), а механически управляемые ионные каналы в мембранах стереоци-

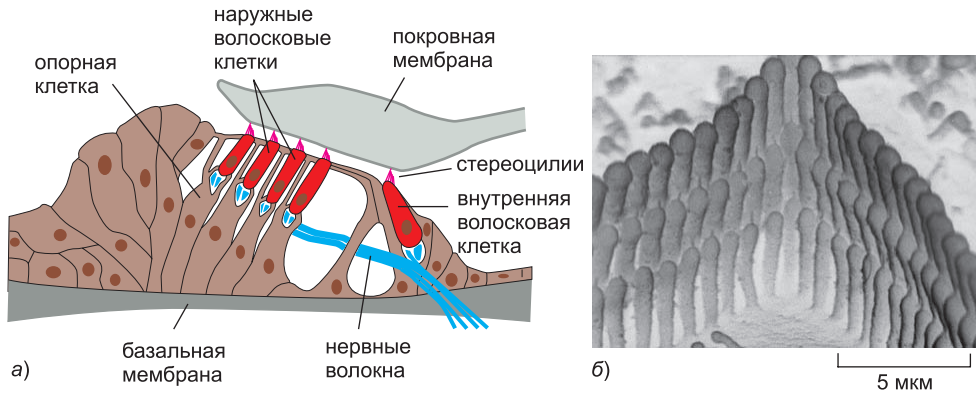


Рис. 23.13. Слуховые волосковые клетки. а) Схематическая иллюстрация поперечного среза слухового аппарата (Кортиева органа) внутреннего уха млекопитающего: видны слуховые волосковые клетки, удерживаемые в сложной эпителиальной структуре из опорных клеток и накрытые сверху массивом внеклеточного матрикса (покровной мембраной). Содержащий волосковые клетки эпителий расположен на базальной мембране — тонкой пленке из упругой ткани, — образующей длинную, узкую перегородку, отделяющую два заполненных жидкостью канала. Звук создает в этих каналах избыточное давление и заставляет базальную мембрану колебаться вверх-вниз. б) Полученная на сканирующем электронном микроскопе фотография верхней поверхности наружной слуховой волосковой клетки с характерными рядами «органных труб» — гигантских микроворсинок (стереоцилий). Основными слуховыми рецепторами служат внутренние волосковые клетки, которых у человека всего лишь 3 500 в каждом ухе. Наружные волосковые клетки, которых у человека примерно в четыре раза больше, как считается, являются частью механизма обратной связи, регулирующего механическое раздражение, передаваемое на внутренние волосковые клетки. (Снимок б заимствован из J. D. Pickles, *Prog. Neurobiol.* 24:1–42, 1985. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

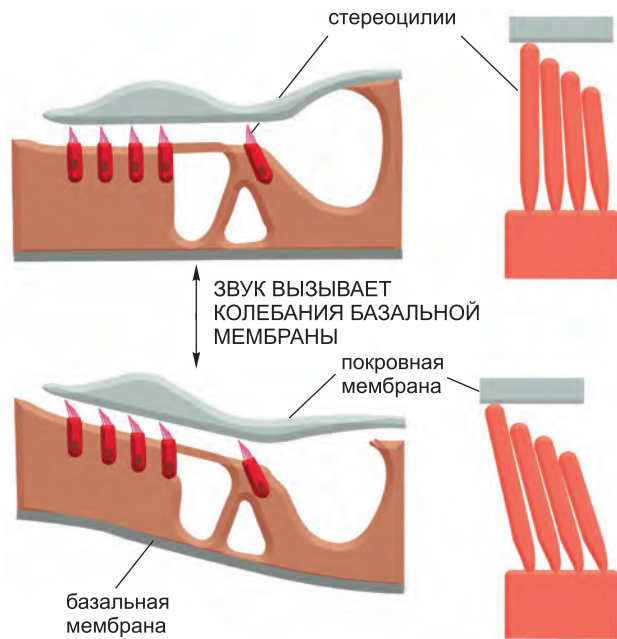


Рис. 23.14. Устройство Кортиева органа внутреннего уха млекопитающего: колебания лежащего сверху внеклеточного матрикса (покровной мембраны) наклоняют стереоцилии слуховых волосковых клеток. Стереоцилии ведут себя как жесткие стержни, имеющие шарнир в основании и объединенные на своих концах в пучок.

лий — открываться или закрываться (рис. 23.15). Поток электрических зарядов, переносимых в клетку в виде ионов, изменяет мембранный потенциал и тем самым управляет высвобождением нейротрансмиттера на базальном конце клетки, там, где расположен синапс нервного окончания.

У человека и других млекопитающих слуховые волосковые клетки, в отличие от обонятельных нейронов, должны существовать на протяжении всей жизни организма. Если они разрушаются в результате болезни, под действием токсинов или чрезмерно громкого шума, то они не восстанавливаются, и протекающая отсюда потеря (снижение) слуха необратима. Однако у некоторых других позвоночных разрушение слуховых волосковых клеток заставляет опорные клетки делиться и вести себя как стволовые: порождать потомство, которое может дифференцироваться и заменять собой утраченные волосковые клетки. Хочется верить, что, изучив этот механизм

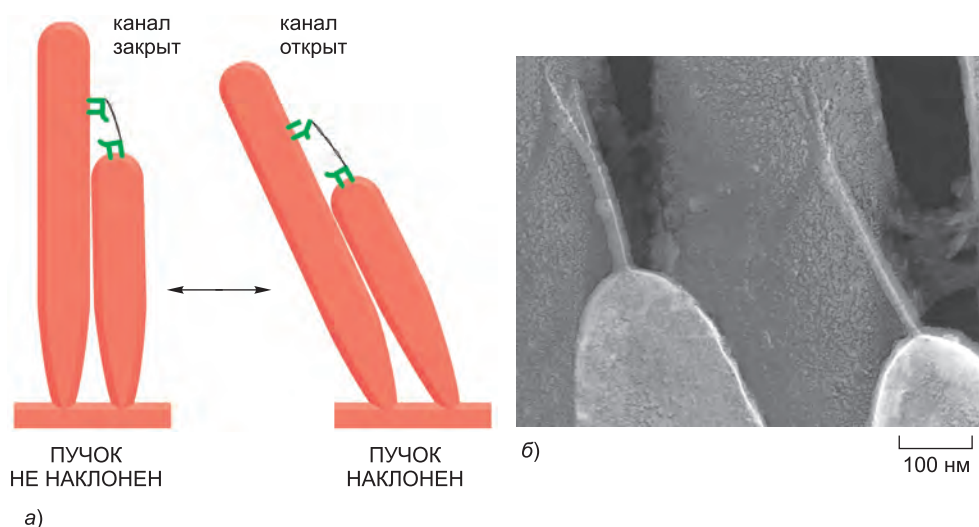


Рис. 23.15. Принцип работы волосковой клетки. а) Клетка работает подобно первичному преобразователю сигнала, генерирующему электрический сигнал в ответ на звуковые колебания, которые раскачивают Кортиев орган и тем самым заставляют стереоцилии наклоняться. От кончика каждой более короткой стереоцилии более или менее вертикально вверх бежит тонкая нить, прикрепленная в некоторой более высокой точке к смежной с ней более рослой соседке. При наклонах пучка волосков нити натягиваются и открывают ионные каналы (с механическим затвором) в мембране стереоцилий. Открытие этих каналов обеспечивает приток положительных зарядов и деполяризует волосковую клетку. б) Электронная фотография нитей, простирающихся от верхушек двух стереоцилий. Каждая нить состоит отчасти из молекул межклеточной адгезии: членов надсемейства кадгеринов. Индивиды, которым недостает этих специфических кадгеринов, не имеют таких нитей, а потому у них проблемы со слухом. В ходе чрезвычайно тонких механических измерений электрических импульсов от единственной волосковой клетки, когда пучок стереоцилий отклоняли гибким стеклянным зондом, обнаружили дополнительную «податливость» связки, так как механически открываемые каналы поддаются приложенной силе и открываются, а вся связка подается вперед без приложения дополнительной силы. Такими экспериментами было показано, что сила, необходимая для открывания одного канала, составляет около $2 \cdot 10^{-13}$ ньютонов и что его затвор при этом откидывается на расстояние приблизительно 4 нм. Этот механизм на удивление чувствителен: установлено, что самые слабые звуки, которые мы способны слышать, растягивали нити в среднем на 0,04 нм, а это составляет чуть менее половины диаметра атома водорода. (Снимок б заимствован из V. Kachar et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:13336–13341, 2000. С любезного разрешения National Academy of Sciences.)

регенерации, мы однажды научимся восстанавливать слуховой эпителий человека.

Пока что известен один способ лечения, позволяющий вызвать частичную регенерацию слуховых волосковых клеток у взрослого млекопитающего. Данная технология основана на применении вируса (аденовируса), сконструированного так, что он содержит копию гена *Atoh1*, кодирующего регуляторный белок, способствующий дифференцировке волосковых клеток в ходе развития. Морские свинки, которые были лишены слуха в результате действия токсина, уничтожающего волосковые клетки, могут быть вылечены инъекцией этой вирусной конструкции в поврежденное ухо. В ходе этой процедуры многие из выживших опорных клеток заражаются модифицированным вирусом и начинают экспрессировать ген *Atoh1*. Он преобразует их в работоспособные волосковые клетки, и слух у животного частично восстанавливается.

23.2.3. Наиболее долговечные клетки обновляют свои части: фоторецепторы сетчатки

Из всех видов нейроэпителия наиболее сложно устроена нервная сеть сетчатки глаза. Она состоит из нескольких слоев клеток, организованных совершенно нетривиально. Нейроны, которые передают сигналы от глаза к мозгу (называемые *ганглиозными клетками сетчатки*), расположены наиболее близко к внешнему миру, так что свет, сфокусированный хрусталиком глаза, должен миновать их, чтобы достичь светочувствительных клеток. **Фоторецепторы**, которые классифицируют на *палочки* и *колбочки*, частично погружены своими световоспринимающими концами, или наружными сегментами, в *пигментный эпителий* (рис. 23.16). Палочки и колбочки содержат разные *зрительные пигменты* — светочувствительные комплексы белка *опсина* со светопоглощающей молекулой *ретинала*. Палочки, зрительный пигмент которых называют *родопсином*, особенно чувствительны при низкой освещенности, тогда как колбочки (которые у человека бывают трех типов, причем каждому из них присуща своя разновидность опсина, придающего им разную спектральную чувствительность) определяют цвет и мелкие детали изображения.

Наружный сегмент фоторецептора, по всей видимости, представляет собой видоизмененную ресничку с характерной для реснички структурой из микротрубочек в области, соединяющей наружный сегмент с остальной частью клетки (рис. 23.17). Остальная часть наружного сегмента почти полностью заполнена уложенными в стопку мембранами, в которые заложены светочувствительные комплексы; поглощенный ими свет вызывает электрический ток, о чем мы уже писали в главе 15. На своих противоположных концах фоторецепторы образуют синапсы со вставочными нейронами, которые и передают сигнал ганглиозным клеткам сетчатки (см. рис. 23.16).

У человека фоторецепторы, как и слуховые волосковые клетки, являются постоянными клетками, которые не способны делиться и обновляться после разрушения в результате болезни или действия неправильно направленного луча лазера. Однако светочувствительные молекулы зрительного пигмента непостоянны — они непрерывно деградируют и заменяются новыми. В палочках (но, что любопытно, не в колбочках) такой оборот организован в виде линии конвейера и может быть проанализирован путем отслеживания прохождения меченных радиоактивной меткой молекул белка через клетку после кратковременной обработки радиоактивной аминокислотой (рис. 23.18). Это движение можно проследить от аппарата Гольджи во внутреннем сегменте клетки к основанию стопки мембран в наружном ее сегменте. Отсюда они постепенно перемещаются к противоположному концу палочки, по мере

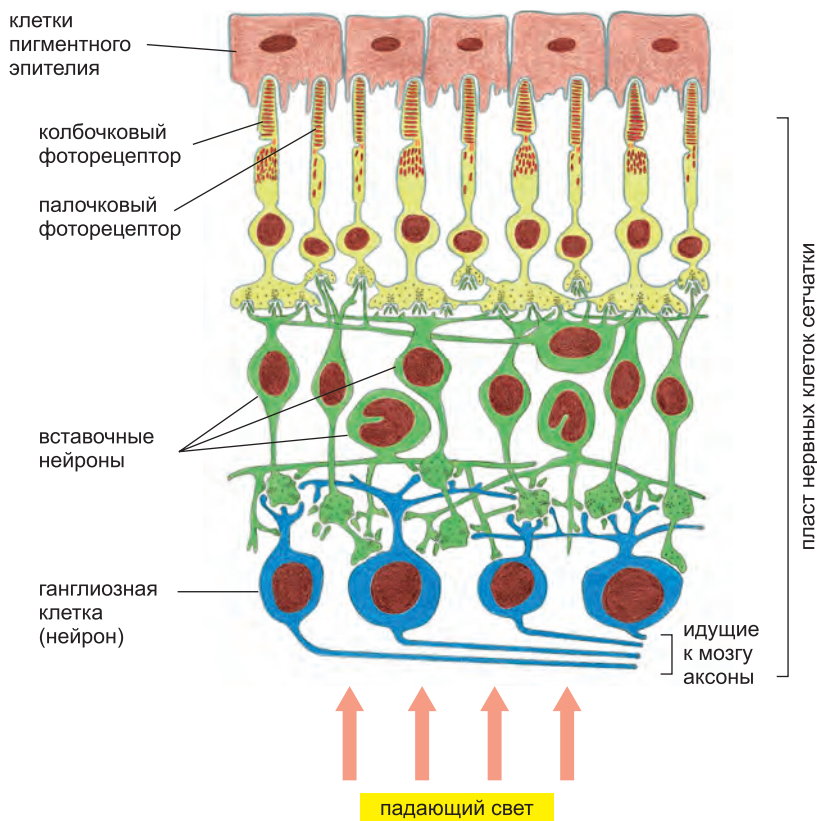


Рис. 23.16. Структура сетчатки глаза. Когда свет падает на фоторецепторы, вырабатываемый электрический сигнал передается через вставочные нейроны к ганглиозным клеткам, которые в свою очередь передают этот сигнал мозгу. Популяция специализированных опорных клеток (здесь не показана) занимает место между нейронами и фоторецепторами в пласте нервных клеток сетчатки. (Рисунок сделан на основе J. E. Dowling and V. B. Boycott, *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 166:80–111, 1966. С разрешения Royal Society.)

того как новые белки синтезируются у ее основания. В конце концов (у крысы — по прошествии примерно 10-ти дней), по достижении верхушки наружного сегмента, меченые белки и слои мембраны, в которую они были погружены, подвергаются фагоцитозу (поглощаются и перевариваются) клетками пигментного эпителия.

Этот пример показывает общий принцип: даже при том, что отдельные клетки некоторых типов сохраняются на протяжении всей жизни, очень малая доля тканей взрослого организма состоит из молекул, образовавших эти ткани в эмбрионе.

Закключение

Большинство чувствительных рецепторных клеток, таких как эпидермальные и нервные клетки, происходит от эпителия, формирующего наружную поверхность эмбриона. Они преобразуют стимулы внешней среды в электрические сигналы и передают их нейронам через химические синапсы. Обязательные клетки носовой полости сами являются полноценными нейронами и посылают

свои аксоны в головной мозг. Они живут всего лишь один-два месяца, а потому непрерывно заменяются новыми, производимыми стволовыми клетками обонятельного эпителия. Каждый обонятельный нейрон экспрессирует только один из сотен различных обонятельных рецепторных белков, кодируемых соответствующими генами, и аксоны ото всех обонятельных нейронов, экспрессирующих одинаковые рецепторные белки, направляются к одним и тем же гломерулам в обонятельных луковицах головного мозга.

В отличие от обонятельных рецепторных клеток, слуховые волосковые клетки — клетки для восприятия звуков — должны сохраняться на протяжении всей жизни организма, по крайней мере у млекопитающих, хотя там, где волосковые клетки были разрушены, запустив с помощью генно-инженерных приемов экспрессию гена дифференциации волосковых клеток *Atoh1*, можно пополнить их ряды за счет выживших опорных клеток. Волосковые клетки не имеют аксона, но образуют синаптический контакт с нервными окончаниями в слуховом эпителии. Они берут свое название от похожих на пучок волос стереоцилий (гигантских микроворсинок), торчащих на их внешней поверхности. Звуковые колебания наклоняют пучок, механически открывая и закрывая ионные каналы на стереоцилиях, и эти электрические поля возбуждают клетку и она посылает сигналы в мозг.

Светочувствительные клетки в сетчатке глаза поглощают фотоны молекулами зрительного пигмента, состоящего из опсинов и ретиналя, которые залегают в мембранном слое наружного сегмента фоторецепторов. Индуцируемое фотонами электрическое поле возбуждает сложнейший внутриклеточный путь передачи сигналов. Хотя сами фоторецепторные клетки постоянны и невозобновляемы, слои содержащих зрительный пигмент мембран постоянно обновляются.

23.3. Дыхательные пути и кишечник

Рассмотренные нами примеры представляют лишь небольшую часть тех тканей и типов клеток, которые происходят из наружного слоя эмбриона — эктодермы. Однако их вполне достаточно, чтобы показать, насколько эти клетки могут быть

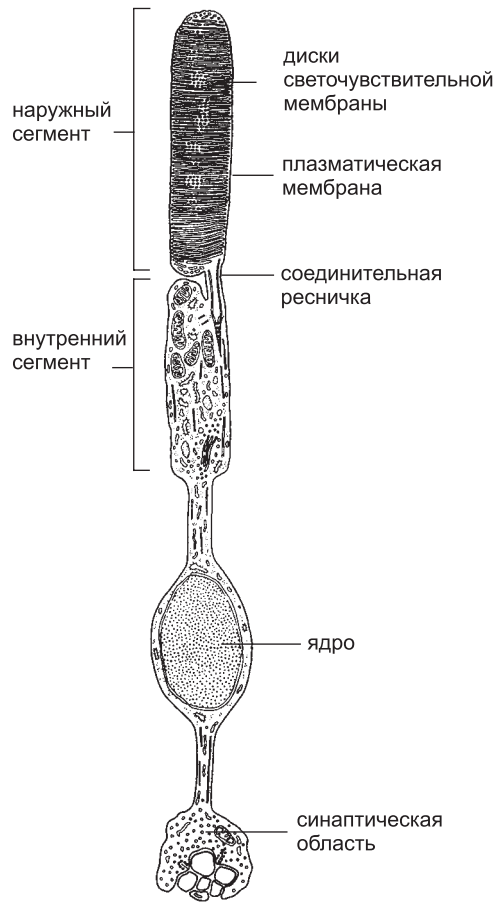


Рис. 23.17. Палочковый фоторецептор.

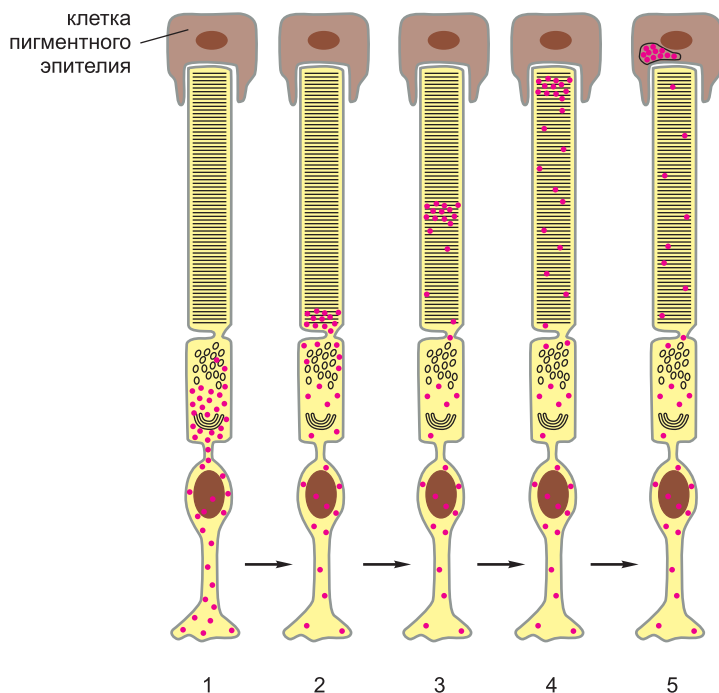


Рис. 23.18. Оборот белков плазматических мембран в палочках. После обработки клеток дозой ^3H -лейцина прохождение меченных радиоактивной меткой белков через клетку отслеживается автордиографией. Красные точки указывают очаги радиоактивности. Этот метод позволяет детектировать ^3H -лейцин, который был включен в белки; остальные его молекулы вымываются в ходе приготовления препарата ткани. 1) сначала включенный в белки ^3H -лейцин находят сконцентрированным в окрестностях аппарата Гольджи. 2) Оттуда он проходит к основанию наружного сегмента в новосинтезированный диск светочувствительной мембраны. 3–5) Со скоростью три или четыре штуки в час (у млекопитающих) образуются новые диски и оттесняют старые к пигментному эпителию.

разнообразны по форме, функциям, образу жизни и механизму их обновления. Самый внутренний слой зародыша, *эндодерма*, образующая примитивную кишечную трубку, дает начало другому набору разнообразных клеток, выстилающих пищеварительный тракт и его придатки. Мы начнем с легких.

23.3.1. В альвеолах легких совместно работают клетки родственных типов

Дыхательные пути легких образуются посредством многократного разветвления системы трубок, образующихся в эмбрионе из выпячиваний выстилки кишечника, о чем писали в главе 22 (см. рис. 22.92). Многочисленные каскады ветвлений заканчиваются несколькими сотнями миллионов заполненных воздухом мешочков — **альвеол**. Альвеолы имеют тонкие стенки, густо оплетенные кровеносными капиллярами, что позволяет обеспечить интенсивный обмен газами O_2 и CO_2 с кровотоком (рис. 23.19).

Для нормальной жизнедеятельности клеток, выстилающих альвеолы, они должны оставаться влажными. В то же время они должны служить емкостью для газа — такой, которая способна расширяться и сжиматься с каждым вдохом и вы-

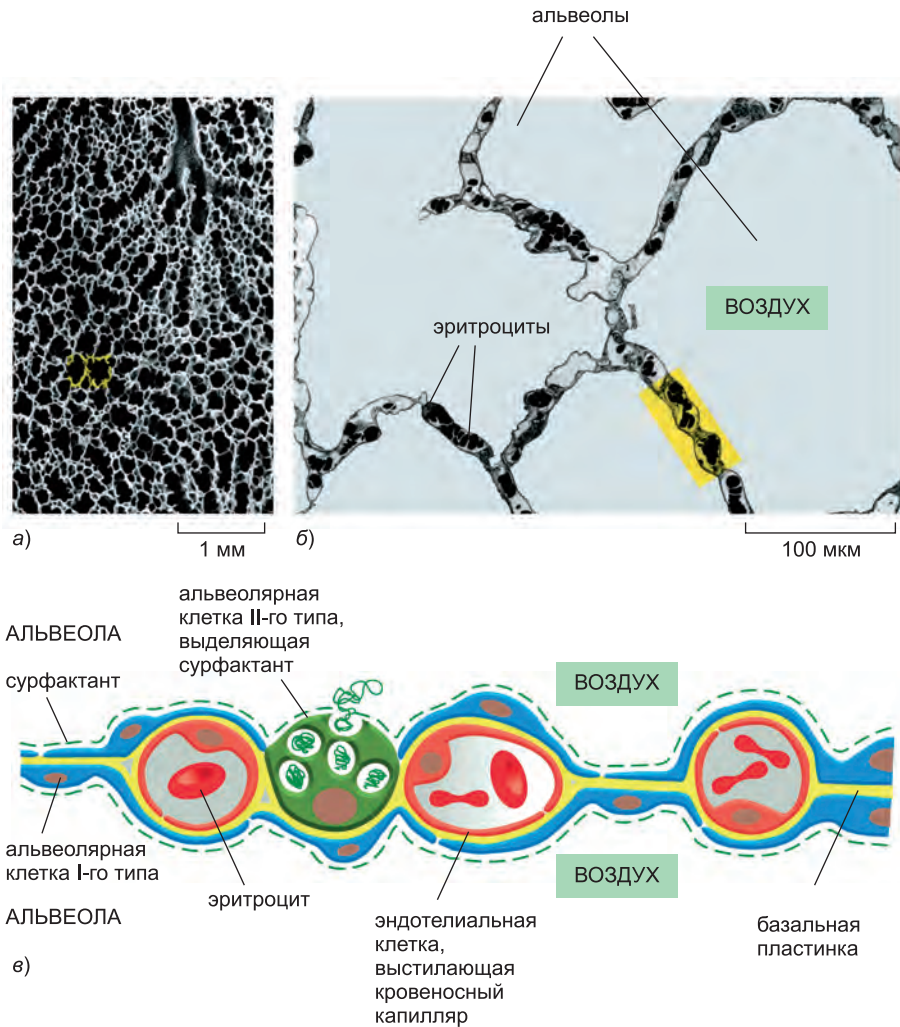


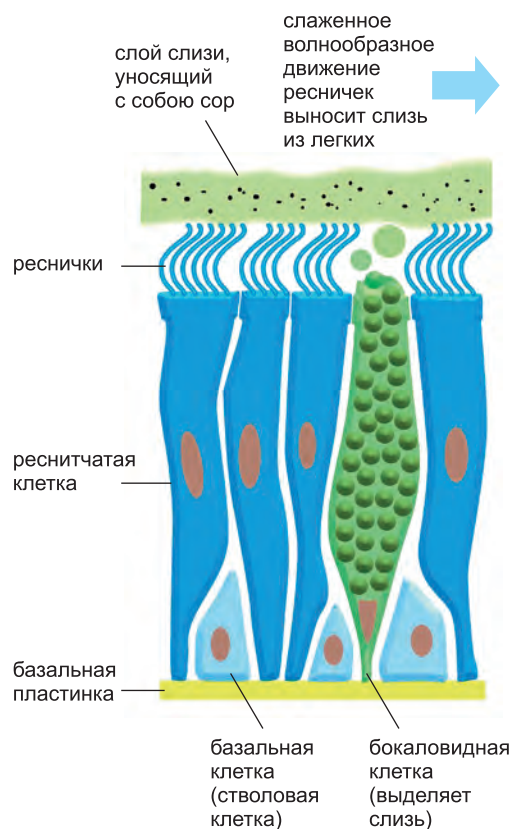
Рис. 23.19. Альвеолы в легком. а) Фотография, сделанная на сканирующем электронном микроскопе при малом увеличении, иллюстрирует губчатоподобную структуру, образованную многочисленными заполненными воздухом альвеолами. Сверху видна бронхиола (мелкий трубчатый воздушный путь), сообщающаяся с альвеолами. б) На полученной с помощью трансмиссионной электронной микроскопии фотографии среза области, соответствующей желтой области на фото а, показаны альвеолярные стенки, в которых и происходит газообмен. в) Схема клеточной архитектуры части альвеолярной стенки, соответствующей желтой области на снимке б. (Фотография а взята из P. Gehr et al., *Respir. Physiol.* 44:61–86, 1981. С любезного разрешения издательства Elsevier; снимок б — с любезного разрешения Peter Gehr и заимствован из D. W. Fawcett, *A Textbook of Histology*, 12th ed. New York: Chapman and Hall, 1994.)

дыхом. Это создает проблему. Когда две влажные поверхности соприкасаются, они слипаются друг с другом за счет сил поверхностного натяжения в водной прослойке между ними — этот эффект проявляется тем сильнее, чем меньше масштаб структуры. Поэтому существует опасность, что альвеолы схлопнутся и не смогут вновь наполниться воздухом. Чтобы решить эту проблему, в выстилке альвеол при-

существуют клетки двух типов. *Альвеолярные клетки I типа* покрывают большую часть стенок: они тонкие и плоские (*чешуевидные*) для обеспечения эффективного газообмена. Между ними рассеяны *альвеолярные клетки II типа*. Они округлые и выделяют сурфактант (*поверхностно-активное вещество*): богатый фосфолипидами материал, который образует пленку на свободных водных поверхностях и уменьшает поверхностное натяжение, благодаря чему альвеолы могут легко раздуваться, даже если они схлопнулись. Производство нормального количества этого сурфактанта у эмбриона человека начинается приблизительно на 5-м месяце беременности. Недоношенные младенцы, рожденные до этой стадии, не могут дышать и потому нежизнеспособны; рожденные же после имеют работающие легкие и, при интенсивной терапии, могут выжить.

23.3.2. Для поддержания воздушных путей в чистоте необходима совместная работа бокаловидных клеток, реснитчатых клеток и макрофагов

Погрузившись глубже в воздушные пути, мы встречаем множество разнообразных клеток, служащих для различных целей. Воздух, который мы вдыхаем, полон пыли, сора и переносимых по воздуху микроорганизмов. Чтобы поддерживать легкие чистыми и здоровыми, этот мусор должен постоянно удаляться. Для выполнения этой задачи крупные воздушные пути выстланы относительно толстым *дыхательным эпителием* (рис. 23.20). Этот эпителий состоит из дифференцированных клеток трех типов: *бокаловидных клеток* (названных так по причине их формы), которые выделяют слизь; *реснитчатых клеток* — с ресничками, которые ритмично и синхронно колеблются; небольшого числа *эндокринных клеток*, выделяющих серотонин и белки, которые служат для локальной передачи сигналов. Эти сигнальные молекулы воздействуют на нервные окончания и соседствующие с ними клетки дыхательного тракта, помогая регулировать интенсивность выделения слизи, скорость колебания ресничек,



ванных клеток трех типов: *бокаловидных клеток* (названных так по причине их формы), которые выделяют слизь; *реснитчатых клеток* — с ресничками, которые ритмично и синхронно колеблются; небольшого числа *эндокринных клеток*, выделяющих серотонин и белки, которые служат для локальной передачи сигналов. Эти сигнальные молекулы воздействуют на нервные окончания и соседствующие с ними клетки дыхательного тракта, помогая регулировать интенсивность выделения слизи, скорость колебания ресничек,

Рис. 23.20. Дыхательный эпителий. Бокаловидные клетки выделяют слизь, которая образует поверхностный защитный покров по вершинам реснитчатых клеток. Постоянными, ритмичными и взаимно согласованными движениями реснички толкают слизь вверх по воздушным путям, выметая любой прилипший к ней сор. Механизм, координирующий биения ресничек, изучен плохо, но он, кажется, отражает собственную поляриность эпителия. Если сегмент трахеи кролика хирургическим путем перевернуть, то он продолжает гнать слизь, но в неправильном направлении, обратно вниз, к легкому, навстречу основному потоку.

сокращение клеток гладкой мускулатуры, способных сужать воздушные пути, а также выполнение других функций. Имеются в эпителии также и базальные клетки, которые служат стволовыми клетками для его обновления.

Выделяемая бокаловидными клетками слизь образует по верхушкам ресничек вязкий и упругий покровный слой толщиной примерно 5 мкм. Реснички, единообразно колеблющиеся в одном направлении, со скоростью приблизительно 12 биений в секунду, выталкивают слизь из легких, увлекая и прилипший к ней сор. Такой «конвейер» для удаления мусора из легких называют *ресничатым эскалатором*. Конечно, некоторые вдыхаемые частички могут достичь самих альвеол, где нет никакого эскалатора. Здесь нежелательные вещества удаляются специализированными клетками еще одного класса — *макрофагами*, которые мигрируют по легким, поглощая инородные вещества и бактерии. Каждый час ресничатым эскалатором из легких выносятся миллионы макрофагов, выполнивших свою функцию по сбору мусора.

В верхней части дыхательного тракта покрытый влажной слизью дыхательный эпителий сменяется многослойным чешуйчатым эпителием. Этот пласт клеток структурирован, обеспечивая тем самым механическую прочность и защиту и, подобно эпидермису, состоит из многих слоев уплощенных клеток, плотно набитых кератином. От эпидермиса он отличается тем, что поддерживается во влажном состоянии и его клетки сохраняют свои ядра даже в наружных слоях. Резкие границы специализации эпителиальных клеток, наподобие перехода между слизистым и многослойным чешуйчатым эпителием дыхательного тракта, встречаются и в других частях организма, но очень мало известно о том, как они образуются и поддерживаются.

23.3.3. Выстилка тонкой кишки самообновляется быстрее, чем любая другая ткань

Легкими обладают только дышащие атмосферным воздухом позвоночные, однако все позвоночные и почти все беспозвоночные имеют кишечник — пищеварительный тракт, выстланный клетками, специализированными для переваривания пищи и всасывания молекул питательных веществ, высвобождаемых в ходе переваривания. Оба эти действия трудно осуществлять в одно и то же время, так как химические процессы, призванные переваривать пищу в просвете кишечного тракта, склонны также и к разрушению самой выстилки кишечника, включая клетки, которые всасывают питательные вещества. Чтобы решить эту проблему, организм использует несколько стратегий.

Самые агрессивные пищеварительные процессы, включающие кислотный гидролиз в сочетании с действием ферментов, протекают в отдельном реакционном сосуде — желудке. После этого продукты пищеварения проходят в тонкий кишечник, где всасываются питательные вещества и продолжается ферментативное расщепление, но уже при нейтральном значении рН. Разные области выстилки кишечника состоят из разных наборов клеток различных типов. Эпителий желудка содержит клетки, выделяющие кислоту, и другие клетки, выделяющие пищеварительные ферменты, которые работают в кислой среде. В то же время железы (в частности, поджелудочная железа), открывающиеся в первичный отдел тонкой кишки, содержат клетки, выделяющие бикарбонат для нейтрализации кислоты, пищеварительные ферменты, работающие в нейтральной среде. Выстилка кишечника, если идти вниз от желудка, содержит как всасывающие клетки, так и клетки, специализированные для выделения слизи, которая обволакивает эпителий защитным слоем. В самом желудке точно так же большую часть открытой поверхности выстилают выделяю-

щие слизь клетки. Но поскольку этих мер недостаточно, вся выстилка желудка и кишечника непрерывно обновляется и заменяется новыми клетками, причем время оборота составляет не более недели.

Процесс обновления лучше всего изучен в тонком кишечнике (рис. 23.21). Выстилка тонкой кишки (и большинства других областей кишечника) представляет собой однослойный эпителий. Этот эпителий покрывает поверхности *ворсинок*, которые выпячиваются в просвет кишечника, и выстилает *крипты*, которые опускаются в расположенную глубже соединительную ткань. Делящиеся стволовые клетки спрятаны в глубине крипт. Они продуцируют потомство в виде дифференцированных клеток четырех типов (рис. 23.22).

1. *Всасывающие клетки* (называемые также *каёмчатými клетками* или *энтероцитами*) несут на своих открытых поверхностях большое количество плот-

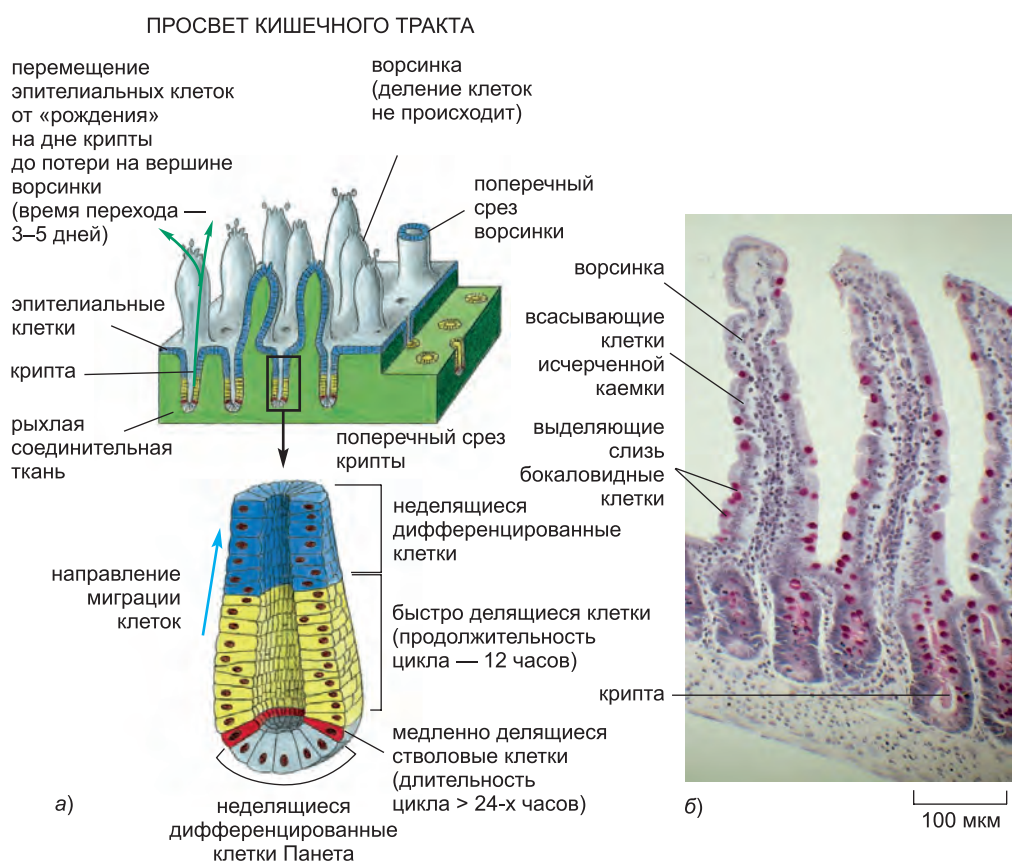


Рис. 23.21. Обновление выстилки кишечника. а) Схема оборота клеток и разрастания стволовых клеток в эпителии, выстилающем тонкий кишечник. Цветная стрелка показывает общее направление движения клеток на ворсинках, но некоторые клетки, включая часть бокаловидных и энтероэндокринных клеток, отстают и дифференцируются, пребывая в криптах. Неделяющиеся дифференцированные клетки (клетки Панета) на самом дне крипт также имеют конечное время жизни и непрерывно заменяются потомством стволовых клеток. б) На фотографии среза части выстилки тонкого кишечника показаны ворсинки и крипты. Обратите внимание, что выделяющие слизь бокаловидные клетки (окрашены красным) вкраплены среди клеток других типов. Энтероэндокринные клетки менее многочисленны и труднее распознаются без специальных красителей. Структура этих клеток представлена на рис. 23.22.

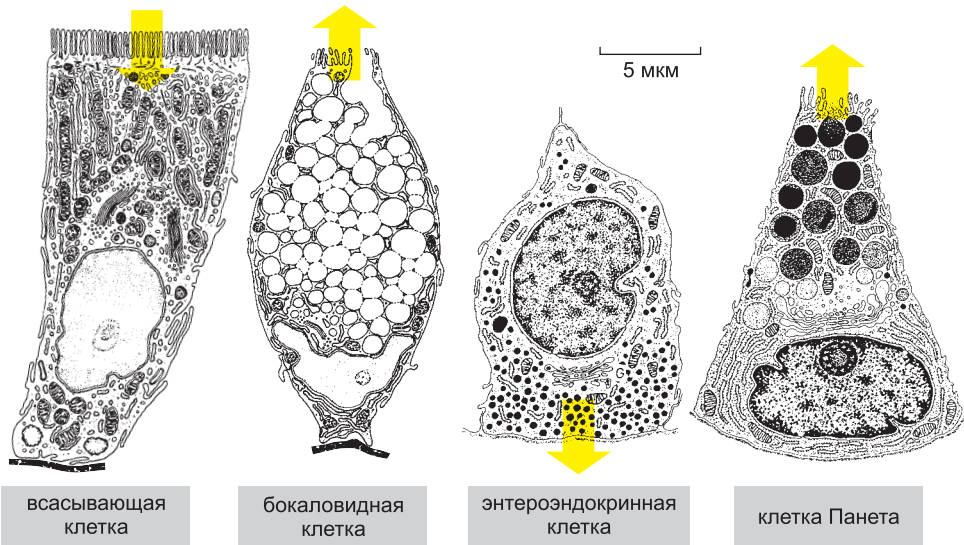


Рис. 23.22. Дифференцированные клетки четырех основных классов, находящиеся в эпителиальной выстилке тонкой кишки. Все они генерируются недифференцированными мультипотентными стволовыми клетками, живущими при основаниях крипт (см. рис. 23.21). Микроворсинки на поверхности верхушек всасывающих клеток (исчерченной каемки) обеспечивают 30-кратное увеличение площади поверхности, полезное не только для импорта питательных веществ, но также и для закрепления ферментов, которые осуществляют заключительные стадии внеклеточного переваривания, расщепляя маленькие пептиды и дисахариды на мономеры, которые могут транспортироваться сквозь клеточную мембрану. Широкие желтые стрелки указывают направление выделения или поглощения материалов для клеток каждого типа. (Нарисовано на основе T. L. Lentz, *Cell Fine Structure*. Philadelphia: Saunders, 1971; R. Krstić, *Illustrated Encyclopedia of Human Histology*. Berlin: Springer-Verlag, 1984.)

но прилегающих друг к другу микроворсинок, что значительно увеличивает площадь их поверхности и способствует максимально быстрому всасыванию питательных веществ. Эти клетки как поглощают питательные вещества, так и выделяют (или несут на своих внешних поверхностях) гидролитические ферменты, служащие для окончательного переваривания пищи — они разлагают ее до молекул, способных проникать через плазматическую мембрану.

2. *Бокаловидные клетки*, как и в дыхательном эпителии, служат для выделения слизи.
3. *Клетки Панета* являются частью врожденной иммунной системы организма (подробно разобранный в главе 24) и выделяют (наряду с некоторыми факторами роста) *криптины* — белки из семейства дефензинов, убивающих бактерии (см. рис. 24.46).
4. *Энтероэндокринные клетки* (а их более 15-ти разных подтипов) выделяют серотонин и полипептидные гормоны типа холецистокинина (ХЦК), которые воздействуют на нейроны и клетки других типов в кишечной стенке и регулируют рост, пролиферацию и пищеварительную активность клеток кишечника и некоторых других тканей. Холецистокинин, например, секретируется энтероэндокринными клетками в ответ на присутствие питательных веществ

в кишечнике и связывается с рецепторами на близлежащих нервных окончаниях, которые передают сигнал в мозг, чтобы тот подавил чувство голода после того, как его обладатель подкрепится достаточно плотно.

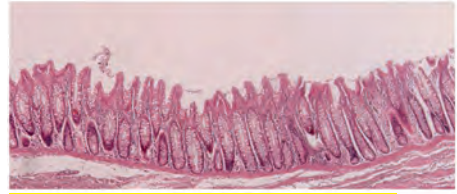
Всасывающие, бокаловидные и энтероэндокринные клетки перемещаются из области, заселенной стволовыми клетками, преимущественно вверх, путем скользящего движения в плоскости эпителиального слоя, и покрывают поверхность ворсинок. По аналогии с эпидермисом предполагают, что наиболее быстро разрастающиеся клетки-предшественницы в крипте находятся на переходной стадии пролиферации: они уже направлены на дифференцировку, но на своем пути из крипты проходят несколько делений, прежде чем прекращают делиться и окончательно дифференцируются. В течение 2–5 дней (у мыши) после выхода из крипты эти клетки достигают верхушки ворсинки, где в них запускается разрушительный механизм апоптоза, после чего эти клетки отсоединяются от эпителия и перевариваются вместе с пищей. Клетки Панета производятся в намного меньших количествах и имеют иную схему перемещений. Они живут на дне крипты, где также непрерывно обновляются, хотя и не так быстро: они сохраняются в течение приблизительно 20 дней (у мыши), после чего также запускают программу апоптоза и фагоцитируются своими соседями. Стволовые клетки остаются в основании крипты, хотя такое их поведение вызывает ряд вопросов. Что удерживает их там и что ограничивает их деление в криптах? Каким образом управляются перемещения клеток, так что одни продвигаются вперед, тогда как другие остаются внизу? Каковы молекулярные сигналы, организующие всю эту систему стволовых клеток и как они работают?

23.3.4. Поддержанию популяции стволовых клеток кишечника способствует сигнальный путь Wnt

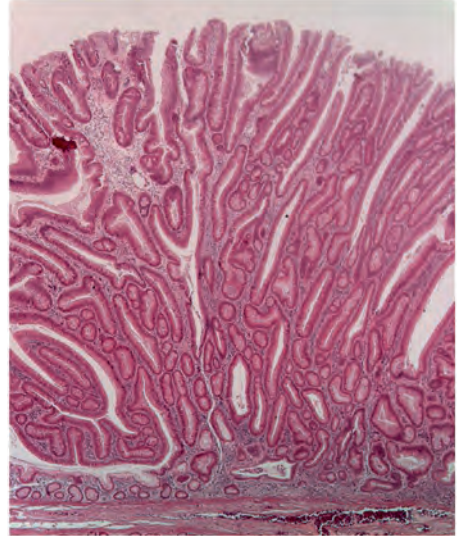
Ответы на эти вопросы отчасти получены в ходе изучения рака ободочной и прямой кишки (это нижний отдел кишечника). В главе 20 мы упоминали о том, что некоторые люди генетически предрасположены к этой болезни, и, прежде чем появятся злокачественные образования, у них развивается большое число маленьких предраковых опухолей (аденом) в выстилке толстого кишечника (рис. 23.23). Эти аденомы образуются из клеток кишечных крипты, которые не смогли остановить свою нормальную пролиферацию и тем самым дали начало чрезмерно большим структурам наподобие крипты. Причина такого явления может быть прослежена до уровня мутаций в гене *Apc* (*Adenomatous Polyposis Coli*): опухоли появляются из клеток, потерявших обе копии этого гена. Ген *Apc* кодирует белок, который предотвращает нежелательную активацию сигнального пути Wnt, так что потеря белка APC, как предполагается, приводит к постоянному и неконтролируемому действию сигнала Wnt. Отсюда можно предположить, что в норме сигнал Wnt поддерживает клетки крипты в состоянии пролиферации, а прекращение воздействия на них сигнала Wnt заставляет их остановить деление после того, как они покидают крипту. И действительно, у мышей, гомозиготных по инактивирующей мутации в гене *Tcf4*, который кодирует регуляторный белок, необходимый для передачи сигнала Wnt в кишке, крипты вообще не образуются, эпителий кишечника не возобновляется — поэтому животные умирают вскоре после рождения.

Эксперименты с трансгенными мышами подтверждают всю важность сигнального пути Wnt и позволяют идентифицировать другие регуляторы, действующие совместно с сигналами Wnt в деле организации клеток кишечника и поддержания правильного режима их обновления. Используя технику Cre/Lox с индуцируемым промотором

Рис. 23.23. Аденома ободочной кишки человека в сравнении с нормальной тканью из смежной области ободочной кишки того же человека. Данный образец получен от пациента с унаследованной мутацией в одной из двух копий гена *Arc*. Мутация в другой копии гена *Arc*, возникшая в эпителиальной клетке ободочной кишки в период взрослой жизни, дала начало клону клеток, которые ведут себя так, как если бы сигнальный путь *Wnt* был постоянно активен. В результате клетки этого клона образуют аденому — огромный, неотвратно разрастающийся массив гигантских криптоподобных структур.



НОРМАЛЬНАЯ ОБОДОЧНАЯ КИШКА



АДЕНОМА

200 мкм

для *Cre* (как описано в главе 8, стр. 567), можно «нокаутировать» ген *Arc* в клетках кишечного эпителия в любое время. В течение нескольких дней после этого структура кишки претерпевает значительные изменения — увеличиваются подобные криптам области разрастающихся клеток, ворсинки уменьшаются в размере, а число окончательно дифференцированных клеток резко сокращается. В то же время можно сделать такую трансгенную мышшь, у которой все клетки кишечного эпителия выделяли бы распространяющийся по кишечнику ингибитор сигналов *Wnt*. Такие животные с заблокированным сигнальным путем *Wnt* практически не образуют крипт и почти не имеют разрастающихся клеток в своем кишечном эпителии. Вместо этого почти все клетки выстилки кишечника представлены полностью дифференцированными, неделяющимися всасывающими клетками, а бокаловидные клетки, энтероэндокринные клетки и клетки Панета отсутствуют. Таким образом, сигнальный путь *Wnt* не только поддерживает в клетках способность к пролиферации, но необходим также и для того, чтобы делать их компетентными для создания всего спектра окончательно дифференцированных клеток.

23.3.5. Сигнальный путь Notch управляет разнообразием клеток кишечника

Что в таком случае заставляет клетки развиваться в разных направлениях, когда они дифференцируются? Во многих других случаях эту функцию выполняет сигнальный путь *Notch*, опосредующий латеральное ингибирование — конкурентное взаимодействие, которое направляет соседние клетки по разным путям дифференцировки (см. главы 15 и 22, рис. 15.75 и 22.60). В криптах экспрессируются все необходимые компоненты пути *Notch*; по всей видимости, их экспрессию включает сигнал *Wnt*. Когда сигнальный путь *Notch* внезапно блокируется — нокдауном одного из этих компонентов, — в течение нескольких дней все клетки крипт дифференцируются в бокаловидные клетки и прекращают делиться; и наоборот, когда в этих клетках искусственно активируется сигнальный путь *Notch*, бокаловидные клетки совсем не производятся, а криптоподобные области клеточной пролиферации значительно увеличиваются.

Проанализировав последствия всех этих манипуляций с сигнальными путями Wnt и Notch, можно нарисовать простую картину того, как совместное действие этих двух путей управляет производством дифференцированных клеток из стволовых клеток кишечника (рис. 23.24). Сигнальный путь Wnt способствует пролиферации клеток, поддерживает в них способность к развитию по всем необходимым путям дифференцировки и в то же время предотвращает незамедлительную дифференцировку; таким образом, он формирует крипту и поддерживает жизнеспособность стволовых клеток. Наряду с этим сигнальный путь Wnt активирует экспрессию компонентов пути Notch, и сигналы Notch в пределах популяции клеток крипты опосредуют латеральное ингибирование, которое заставляет разные клетки выбирать различные пути дифференцировки — так что одни осуществляют латеральное ингибирование, а другие ему подвергаются. Клетки первого класса экспрессируют лиганды белка Notch и активируют путь Notch в своих соседях, но сами избегают активации сигналом Notch; в результате они дифференцируются в секреторные клетки. Клетки второго класса (а их большинство) поддерживаются в противо-

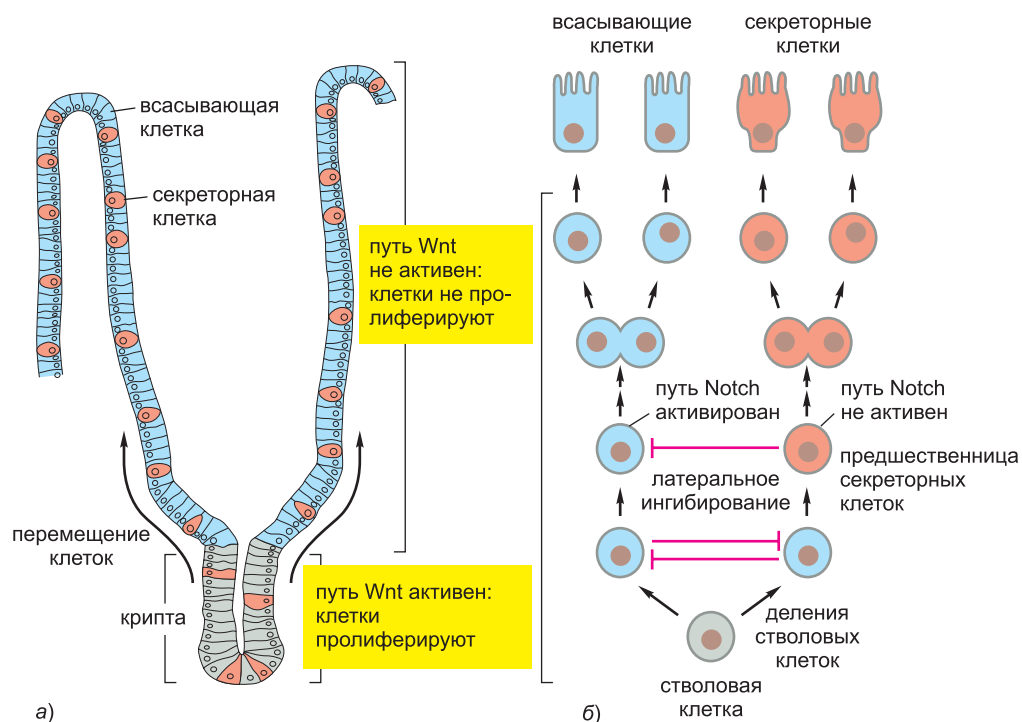


Рис. 23.24. Сигнальные пути Wnt и Notch совместно управляют производством дифференцированных клеток из стволовых клеток в кишечнике. а) Сигнал Wnt поддерживает пролиферацию проживающих в крипте стволовых клеток, и их потомство направляется по разным путям дифференцировки. б) Действующий в крипте сигнал Wnt обуславливает экспрессию в ней компонентов сигнального пути Notch; таким образом, сигнальный путь Notch активен в крипте и через латеральное ингибирование вынуждает находящиеся в ней клетки дифференцироваться разными путями. Для поддержания клетки в состоянии стволовой в ней должны быть активированы оба пути. Под влиянием сигнала Wnt потомки стволовой клетки продолжают делиться даже после их направления на определенные пути дифференцировки, но зависимость длительности таких делений транзиторных амплифицирующихся клеток от направления на тот или иной путь дифференцировки еще не изучена во всех подробностях.

положном состоянии — с активированным путем Notch, но заингибированной экспрессией его лигандов; в итоге они сохраняют способность к дифференцировке по любому из доступных для них путей и к конкуренции со своими соседями за сигналы латерального ингибирования. Клетки обоих классов (за исключением некоторых подтипов секреторных клеток) продолжают делиться, пока находятся в крипте под влиянием сигналов Wnt. Однако, когда они оставляют крипту и оказываются недостижимы для сигнального пути Wnt, конкуренция прекращается, деление останавливается, а клетки дифференцируются в зависимости от статуса пути Notch в это время: если Notch все еще активен, то во всасывающие клетки, если же нет, то в секреторные.

Конечно же, крипта устроена намного сложнее. Нарисованная нами картина лишена как малозначимых деталей, так и важных персонажей. К примеру, она не объясняет, каким образом и за счет чего секреторные клетки разных подклассов (бокаловидные, энтероэндокринные и клетки Панета) начинают отличаться друг от друга. Также мы оставили в стороне вопрос о том, существует ли различие между истинными стволовыми клетками крипты и быстрее их делящимися транзитными амплифицирующимися клетками. В эпителии крипт и в соединительной ткани вокруг их оснований экспрессируется множество различных компонентов каждого из путей Wnt и Notch, которые, вероятно, обладают разным действием на клетки крипты. Более того, немаловажные функции в организации этой системы выполняют также и другие сигнальные пути.

23.3.6. Сигнальный путь эфрин–Eph управляет миграцией эпителиальных клеток кишечника

Одна из наиболее замечательных особенностей системы стволовых клеток кишечника — устойчивое, упорядоченное и избирательное перемещение клеток из крипты на ворсинку. Дифференцирующиеся всасывающие, бокаловидные и энтероэндокринные клетки устремляются наружу из крипт вверх по ворсинкам (рис. 23.25); стволовые клетки остаются в глубине крипт, а клетки Панета мигрируют вниз на самое их дно. Такая миграционная схема, позволяющая пространственно разделить клетки разных групп, зависит от еще одного пути передачи межклеточных сигналов. Сигнальный путь Wnt стимулирует экспрессию в клетках крипты рецепторов семейства EphB (были рассмотрены нами в главе 15); однако во время дифференцировки клетки выключают экспрессию этих рецепторов и включают вместо них экспрессию их лигандов — белков клеточной поверхности семейства эфрин В (рис. 23.26, а). Есть, однако, одно исключение: клетки Панета продолжают экспрессировать гены EphB. Таким образом, экспрессия рецепторов EphB характерна для клеток, которые остаются в криптах, тогда как экспрессия их лигандов — эфринов В — характерна для клеток, выбирающихся из крипт и мигрирующих на ворсинки. Во многих других тканях клетки, экспрессирующие гены рецепторов Eph, «отталкиваются» клетками, экспрессирующими эфрины (см. главу 22, рис. 22.106). По всей видимости, этот же механизм работает и в выстилке кишечника, позволяя удерживать клетки в надлежащих местах. У мутантов с нокаутом генов рецепторов EphB популяции клеток становятся гетерогенными, так что, например, клетки Панета можно обнаружить и на ворсинках (рис. 23.26, в). Потеря генов рецепторов EphB при разных видах рака кишечника часто коррелирует с началом инвазивного поведения опухолевых клеток.

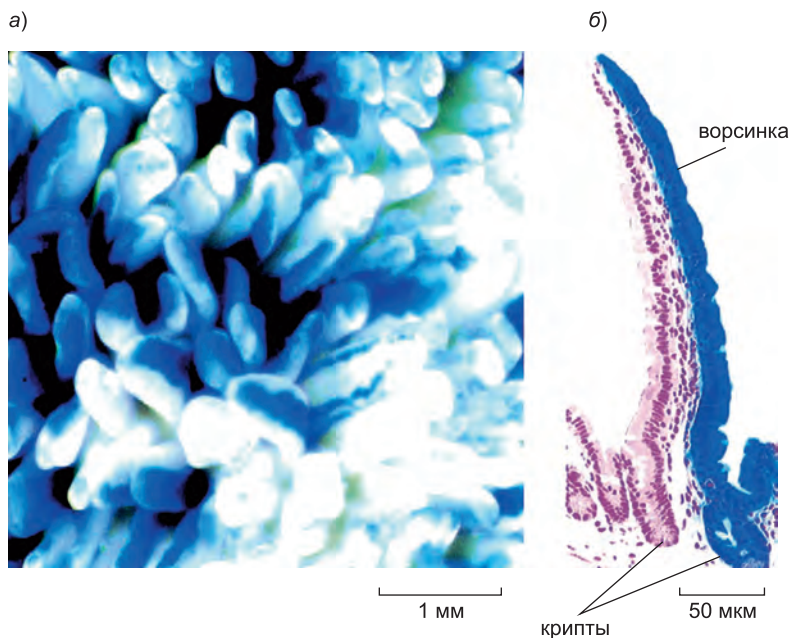


Рис. 23.25. Миграция клеток из крипт на ворсинки. В кишечнике этой мыши случайный набор эпителиальных клеток подвергнут мутагенезу на поздней стадии развития плода, при этом мутантные клетки экспрессируют трансген *LacZ*, кодирующий фермент, который может быть обнаружен по синему цвету продукту катализируемой им реакции. На 6-й неделе после рождения мышонка каждая крипта населяется потомством какой-нибудь одной стволовой клетки и, таким образом, выглядит или полностью синей, или полностью белой — в зависимости от того, была ли стволовая клетка помечена трансгеном. Одну ворсинку питает несколько крипт, каждая из которых направляет движущийся по ней поток дифференцированных клеток вверх. *а)* Сделанный при небольшом увеличении снимок поверхности участка выстилки кишечника: видны многочисленные ворсинки, и каждая из них получает клетки от нескольких крипт. *б)* Подробный вид одной ворсинки и смежных с ней крипт в поперечном сечении. В представленном примере клетки, произведенные в разных криптах, остались несмешанными, так что ворсинка выглядит синей с одной стороны, и белой — с другой; однако в большинстве случаев происходит некоторое смешение, что приводит к результату менее упорядоченному. (Изображения позаимствованы из M. H. Wong, J. R. Saam, T. S. Stappenbeck, C. H. Rexer and J. I. Gordon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:12601–12606, 2000. С любезного разрешения National Academy of Sciences.)

23.3.7. Границы ниши стволовых клеток определяются совместным действием сигнальных путей *Wnt*, *Hedgehog*, *PDGF* и *BMP*

Понятно, что стволовые клетки кишечника не могут существовать без особой окружающей среды, создаваемой для них криптой. Такая **ниша стволовых клеток** важна не менее, чем сами стволовые клетки. Как же она образуется и поддерживается в нормальном состоянии? Механизм этот зависит от сложного взаимодействия между эпителием и лежащей под ним соединительной тканью. Обмен сигналами *Wnt*, *Hedgehog* и *PDGF* между этими двумя тканями, а также между разными областями по оси крипта–ворсинка ведет к ограничению активности сигналов *Wnt* в окрестности крипт. Эпителиальные клетки в криптах производят как белки *Wnt*, так и их рецепторы, создавая контур положительной обратной связи, который пред-

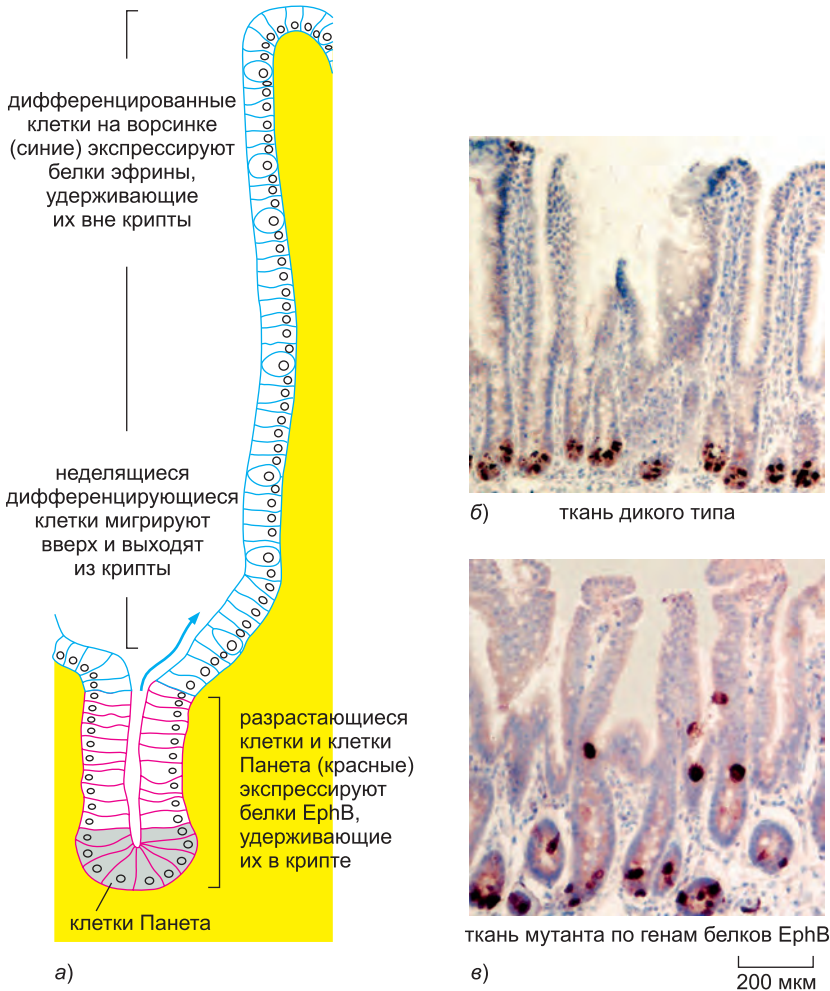


Рис. 23.26. Сигнальный путь Эфрин–Ерн управляет распределением клеток между криптами и ворсинками. а) Пролиферирующие клетки (в том числе стволовые) и клетки Панета экспрессируют белки EphV, в то время как дифференцированные, неделящиеся клетки, покрывающие ворсинки, экспрессируют белки семейства эфрин В. Отталкивание между этими клетками, опосредуемое отталкиванием между молекулами этих двух типов клеточной поверхности, удерживает скопления клеток этих двух классов разделенными в пространстве. б) Благодаря действию этого механизма в нормальном кишечнике клетки Панета (коричневый краситель) и делящиеся клетки локализованы в глубине крипт. в) В случае мутации в гене EphV клетки, которые должны оставаться в криптах, поднимаются на ворсинки. (Сделано на основе E. Batlle et al., *Cell* 111:251–263, 2002. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

положительно обеспечивает самоподдерживающуюся активацию пути Wnt в этой области. В то же самое время обмен сигналами с соединительной тканью обуславливает экспрессию белков BMP в клетках соединительной ткани, являющейся основой ворсинок (рис. 23.27). Эти клетки посылают сигнал к эпителию соседней ворсинки, чтобы затормозить развитие лишних крипт: блокирование сигналов BMP нарушает всю эту организацию и приводит к образованию новых крипт в виде впячиваний разрастающегося эпителия по бокам ворсинок.

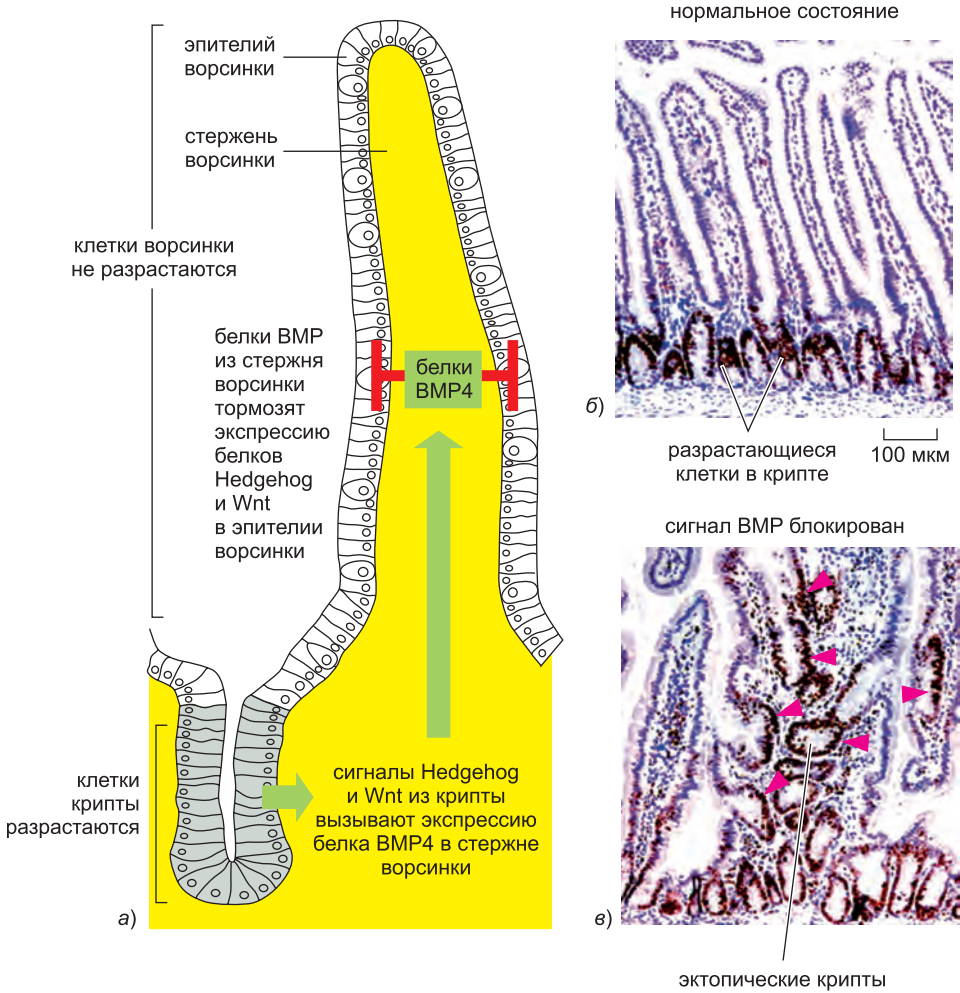


Рис. 23.27. Сигналы, определяющие нишу стволовых клеток кишечника. а) Схема сигнальной системы. Эпителиальные клетки в основании каждой крипты экспрессируют гены сигнальных белков из семейств Hedgehog и Wnt, а наряду с ними — рецепторы сигнала Wnt и потому сами испытывают высокие уровни активации сигналами Wnt. Клетки соединительной ткани, лежащие под эпителием, экспрессируют и рецепторы сигнала Hedgehog, и рецепторы сигнала Wnt. Общее действие сигналов из основания крипты, возможно, в комплексе с другими сигналами, призвано побудить клетки соединительной ткани, которые лежат в стержне каждой ворсинки, экспрессировать белки BMP. Белки BMP воздействуют на эпителий ворсинки, препятствуя ее клеткам образовывать крипты. б) Поперечный срез области нормального кишечного эпителия. Коричневый краситель отмечает пролиферирующие клетки, которые ограничены криптами. в) Подобным же образом окрашен срез кишечника трансгенной мыши, экспрессирующей ингибитор сигналов BMP. Крипты, содержащие делящиеся клетки, развились эктопически, на склонах деформированных ворсинок. (Снимки б и в любезно предоставлены А. Haramis et al., *Science* 303:1684–1686, 2004. С любезного разрешения AAAS.)

23.3.8. Печень является связующим звеном между пищеварительным трактом и кровеносной системой

Как мы могли убедиться, для выполнения своей основной функции кишечнику требуются клетки самых разных типов. Одни специализированы для выделения соляной кислоты, другие — для выделения ферментов, третьи — для всасывания питательных веществ и так далее. Клетки некоторых из этих типов перемешаны между собой в стенке кишечника, тогда как другие обособлены в крупные железы, которые сообщаются с кишечником и появляются у эмбриона в виде выростов кишечного эпителия.

Наиболее внушительная из таких желез печень. Она развивается на участке, где главная вена проходит вблизи стенки первичной кишечной трубки, и взрослый орган сохраняет особую взаимосвязь с кровью. Клетки печени, происходящие от эпителия первичной кишки — **гепатоциты**, — организованы во взаимосвязанные пласты и тяжи, а пролегающие между ними пространства заполнены кровью и называются синусоидами (рис. 23.28). Кровь отделена от поверхности гепатоцитов одинарным слоем плоских эндотелиальных клеток, покрывающих внешние поверхности гепатоцитов. Эта структура облегчает печени отправление своих основных функций, зависящих от обмена метаболитами между гепатоцитами и кровью.

Печень — это основной орган, в котором питательные вещества, поступившие из кишечника и затем перешедшие в кровь, обрабатываются для использования другими клетками организма. Основной поток крови идет в печень непосредственно от кишечного тракта (через воротную вену). Гепатоциты способны синтезировать, разрушать и запасать огромное количество различных веществ. Они играют центральную роль в углеводном и жировом обмене веществ организма в целом и выделяют львиную долю белков плазмы крови. В то же время гепатоциты остаются связанными с просветом кишки через систему мельчайших канальцев и более широких протоков (см. рис. 23.28, б, в) и выделяют в кишечник по этим путям как ненужные продукты своего метаболизма, так и эмульгирующий агент, *желчь*, которая облегчает всасывание жиров. Гепатоциты — довольно крупные клетки, и приблизительно 50% из них (у взрослого человека) полиплоидны с двумя, четырьмя, восемью (или даже больше) наборами ДНК на клетку.

В отличие от всей остальной части пищеварительного тракта, в печени наблюдается удивительно небольшое разделение труда в популяции гепатоцитов. Каждый гепатоцит способен выполнять общий для всех широкий диапазон метаболических и секреторных задач. Как мы объясняем далее, эти полностью дифференцированные клетки способны, помимо всего прочего, многократно делиться, когда в этом возникает необходимость.

23.3.9. Потеря клеток печени стимулирует пролиферацию оставшихся гепатоцитов

Печень поразительным образом отражает одну большую нерешенную проблему биологии развития и гистологии: что служит определяющим фактором для размеров органа тела и количества ткани одного типа относительно количества ткани другого типа? Очевидно, что для разных органов и тканей механизмы регуляции должны отличаться, но до сих пор ни один из них толком не изучен.

Гепатоциты обычно живут около года или немногим больше и обновляются довольно медленно. Однако даже в медленно обновляющейся ткани небольшое, но устойчивое расхождение между скоростью размножения клеток и скоростью

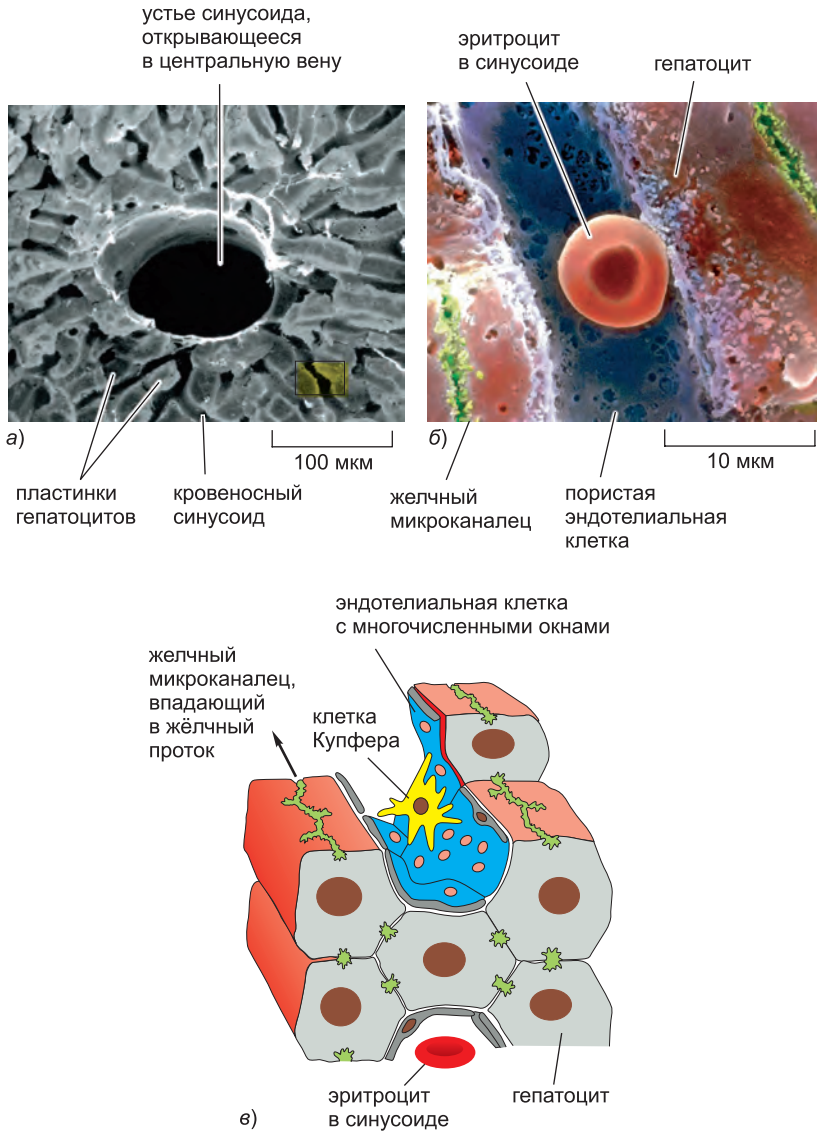


Рис. 23.28. Структура печени. а) Полученная сканирующей электронной микроскопией фотография фрагмента печени. Видны нерегулярные пласты и тяжи гепатоцитов и множество маленьких каналов, или синусоид, для тока крови. Более крупные каналы — сосуды, распределяющие и собирающие кровь, которая течет по синусоидам. б) Участок синусоида (увеличенное изображение области, отмеченной желтым прямоугольником в нижней правом углу снимка а). в) Схематичное изображение тонкой структуры печени. Одинарный тонкий слой эндотелиальных клеток с вкрапленными в него макрофагоподобными клетками Купфера отделяет гепатоциты от кровотока. Через маленькие отверстия в эндотелиальном слое, называемые фенестрами (от лат. fenestrae — окно), осуществляется обмен молекулами и маленькими частицами между гепатоцитами и кровотоком. Наряду с обменом материалами с кровью гепатоциты образуют систему крошечных желчных канальцев, куда они выделяют желчь, которая в конечном счете выбрасывается в кишечник через желчные протоки. Реальная структура печени отличается от представленной на этой схеме гораздо меньшей упорядоченностью взаимного расположения клеток. (Снимки а и б любезно предоставлены Pietro M. Motta из University of Rome «La Sapienza».)

их смерти привело бы к печальным последствиям. Если бы у человека каждую неделю делилось 2% гепатоцитов, а умирал только 1%, то его печень постоянно разрасталась бы и за 8 лет превысила вес остального тела. Для поддержания органа в его нормальных размерах должны работать гомеостатические механизмы, регулирующие или скорость разрастания клеток, или скорость смерти клеток, или оба эти процесса. Более того, размер органа должен соответствовать размерам других органов и всего организма. Действительно, когда печень маленькой собаки пересаживается в крупную собаку, она быстро растет и почти достигает размера, соответствующего габаритам хозяина; и наоборот, когда печень пересаживается от большой собаки к маленькой, она уменьшается.

Прямое подтверждение гомеостатического управления разрастанием клеток печени получено в ходе экспериментов, в которых значительные количества гепатоцитов удаляли хирургически или убивали, обрабатывая четыреххлористым углеродом. Примерно через день после повреждения любого вида выжившие гепатоциты начинают активно делиться и быстро заменяют утраченную ткань. (Если сами гепатоциты полностью исчезнут, то клетки другого класса, расположенные в желчных протоках, могут послужить стволовыми клетками для порождения новых гепатоцитов, но обычно такой необходимости не возникает.) Например, если удалить две трети печени крысы, то за счет разрастания гепатоцитов из оставшейся части приблизительно за 2 недели может восстановиться печень почти нормального размера. Хотя в запуске этой реакции участвует множество сигналов, одним из наиболее важных является белок, называемый *фактором роста гепатоцитов*. Он побуждает гепатоциты делиться в культуре, и в ответ на повреждение печени его производство резко увеличивается (механизм этого пока изучен довольно плохо).

Равновесие между рождением и смертью клеток во взрослой печени (а также и в других органах) поддерживается не только в результате регуляции их размножения: определенную роль играет также управление выживанием клеток. Например, если взрослую крысу обработать фенobarбиталом, то гепатоциты начинают активно делиться, в силу чего печень увеличивается. Когда обработку фенobarбиталом прекращают, гепатоциты начинают активно отмирать до тех пор, пока печень не возвратится к своему исходному размеру (обычно за неделю или около того). Механизм такого рода контроля жизнеспособности клеток неизвестен, но предполагается, что жизнеспособность гепатоцитов, как и большинства других клеток позвоночных, зависит от сигналов, поступающих от соседних клеток и что нормальный уровень этих сигналов способен поддерживать жизнеспособность лишь ограниченного числа гепатоцитов. Если количество гепатоцитов превышает этот порог (скажем, в результате обработки фенobarбиталом), то смертность гепатоцитов автоматически увеличится, чтобы снизить их число до нормы. Однако механизмы, поддерживающие надлежащий уровень факторов выживания, до сих пор не изучены.

23.3.10. Обновление ткани не зависит от стволовых клеток: клетки, вырабатывающие инсулин в поджелудочной железе

Большинство органов дыхательного и пищеварительного трактов, включая легкие, желудок и поджелудочную железу, содержат популяции эндокринных клеток, подобных энтероэндокринным клеткам кишечника, образующихся в эпителии под управлением сигнального пути Notch. *Вырабатывающие инсулин клетки* (β -клетки) поджелудочной железы относятся к этой категории. Понимание механизма их обновления чрезвычайно важно, потому что потеря именно этих клеток

(в результате аутоиммунного поражения) приводит к диабету I типа у детей и является существенным фактором развития сахарного диабета II типа у взрослых. В нормальной поджелудочной железе эти клетки обособлены в скоплениях, называемых *островками Лангерганса* (рис. 23.29), где они соседствуют с родственными им энтероэндокринными клетками, выделяющими другие гормоны. Эти островки не содержат никаких клеток, которые можно было бы считать стволовыми, и все же в них непрерывно образуются новые β -клетки. Так откуда же они берутся?

Ответ на этот вопрос получен в ходе изучения трансгенных мышей, полученных с помощью изящного варианта техники Cre-Lox (описанной в главе 8). С помощью этого подхода в геном клеток мыши вводилась специальная мутация, однако рекомбинация могла происходить только в тех клетках, которые экспрессировали ген инсулина. При этом единственными клетками, которые получали эту мутацию и могли передавать ее своему потомству во время обработки этим препаратом, являлись уже дифференцированные β -клетки. Когда год спустя проанализировали подопытных мышей, все новообразованные β -клетки содержали мутацию, а это свидетельствует о том, что они являются потомками дифференцированных β -клеток, а не каких-либо недифференцированных (стволовых) клеток. Как в печени, так и в поджелудочной железе популяция дифференцированных клеток обновляется и расширяется путем простого деления уже существующих дифференцированных клеток, а не за счет активности стволовых.

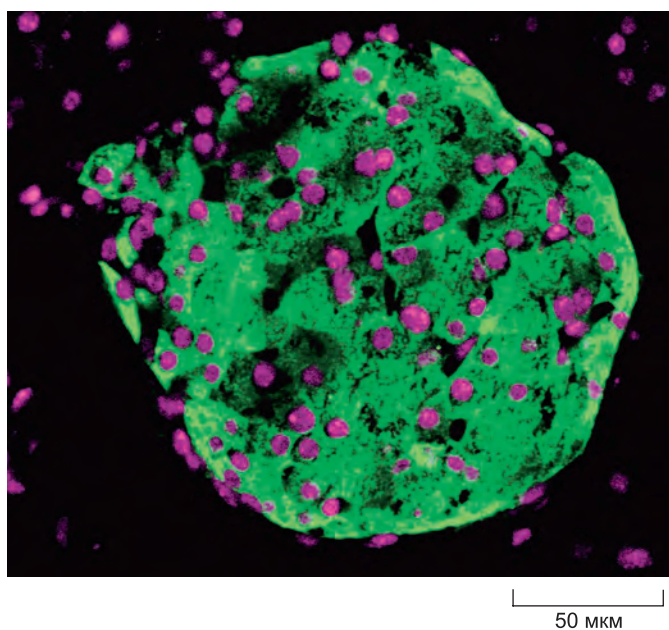


Рис. 23.29. Островок Лангерганса в поджелудочной железе. Выделяющие инсулин клетки (β -клетки) окрашены *зеленым* при помощи иммунофлюоресценции. Ядра клеток окрашены *фиолетовым* с помощью красителя ДНК. Окружающие экзокринные клетки поджелудочной железы (выделяющие пищеварительные ферменты и бикарбонат через открывающиеся в кишечник протоки) не окрашены, за исключением ядер. В пределах островка, близко к его поверхности, есть также малочисленные клетки (неокрашенные), выделяющие гормоны типа глюкагона. Выделяющие инсулин клетки заменяют себя простым удвоением без помощи специализированных стволовых клеток. (На основе фотографии, любезно предоставленной Yuval Dor. © 2004 Yuval Dor, The Hebrew University, Jerusalem.)

Заключение

Легкие выполняют простую функцию газообмена, однако обслуживающие их жизнедеятельность системы сложны. Выделяющие сурфактант клетки не дают альвеолам слипаться. Макрофаги постоянно прочесывают альвеолы в поисках мелких соринки и микроорганизмов. Реснитчатый «эскалатор», образуемый выделяющими слизь бокаловидными клетками и мерцательными реснитчатыми клетками, выводит мусор из воздушных путей.

*В кишечнике, где происходят разрушительные химические процессы, постоянное и быстрое обновление клеток помогает поддерживать всасывающий эпителий в нормальном состоянии. В тонком кишечнике находящиеся в криптах стволовые клетки порождают новые всасывающие, бокаловидные, энтероэндокринные клетки и клетки Панета, позволяя всего лишь за неделю обновлять большую часть эпителиальной выстилки кишечника. Сигналы *Wnt* в криптах поддерживают популяцию стволовых клеток, в то время как сигнальный путь *Notch* регулирует разнообразие пути развития их дифференцированных потомков и ограничивает число тех из них, кому уготована судьба секреторных клеток. Межклеточные взаимодействия в пределах эпителия, опосредуемые сигнальной системой эфрин-Ерн, управляют избирательным перемещением дифференцирующихся клеток из крипт вверх на ворсинки. Взаимодействия между эпителием и стромой, использующие сигнальные пути *Wnt*, *Hedgehog*, *PDGF* и *BMP*, организуют структуру из крипт и ворсинок и тем самым «обустраивают» ниши, в которых обитают стволовые клетки.*

Печень — более защищенный орган, но в случае необходимости она тоже может быстро регулировать свой размер в большую или меньшую сторону за счет, соответственно, разрастания или гибели клеток. Дифференцированные гепатоциты сохраняют способность делиться на протяжении всей жизни организма, показывая тем самым, что для обновления тканей не всегда требуется специализированный класс стволовых клеток. Точно так же в поджелудочной железе сообщество вырабатывающих инсулин клеток умножается и обновляется путем простого деления.

23.4. Кровеносные сосуды, лимфатические сосуды и клетки эндотелия

От тканей, происходящих из эктодермы и энтодермы зародыша, мы обратимся к тем, которые образуются из *мезодермы*. Этот срединный слой клеток, пролегающий между эктодермой и энтодермой, вырастает, развивается и в итоге превращается в разнообразные виды опорных тканей. Он дает начало соединительным тканям организма, клеткам крови, кровеносным и лимфатическим сосудам, а также мышцам, почкам и многим другим структурам и группам клеток. Начнем с кровеносных сосудов.

Жизнедеятельность тканей невозможна без кровоснабжения, а кровоснабжение, в свою очередь, зависит от **эндотелиальных клеток**, которые образуют выстилку кровеносных сосудов. Эндотелиальные клетки имеют замечательную способность регулировать свою численность и изменять взаимное расположение, чтобы удовлетворять локальным требованиям. Они создают приспособляемую систему жизнеобеспечения, простирающуюся за счет перемещения клеток практи-

чески в каждую область тела. Если бы не эндотелиальные клетки, наращивающие и перестраивающие сеть кровеносных сосудов, то рост и восстановление тканей были бы невозможны. Злокачественные новообразования так же зависят от кровоснабжения, как и здоровые ткани, и этот факт вызвал волну интереса к биологии эндотелиальных клеток. Ученые надеются, что, блокируя формирование новых кровеносных сосудов за счет лекарственных препаратов, которые воздействуют на эндотелиальные клетки, возможно блокировать рост опухолей (мы обсуждали этот вопрос в главе 20).

23.4.1. Все кровеносные и лимфатические сосуды выстланы эндотелиальными клетками

Наиболее крупные кровеносные сосуды, артерии и вены, состоят из толстой и жесткой стенки соединительной ткани, обернутой множеством слоев гладкой мускулатуры (рис. 23.30). Стенка их выстлана чрезвычайно тонким одинарным слоем эндотелиальных клеток — *эндотелием*, — отделенным от окружающих внешних слоев базальной пластинкой. Количество соединительной ткани и гладкой мускулатуры в стенке сосуда может меняться в зависимости от его диаметра и выполняемой им функции, но эндотелиальная выстилка имеется во всех сосудах. В самых тонких ответвлениях сосудистого дерева — капиллярах и синусоидах — стенки состоят только из эндотелиальных клеток и базальной пластинки (рис. 23.31) наряду с немногочисленными и рассеянными, но важными в функциональном отношении, *перипицитами*. Это представители клеток соединительной ткани, они родственны клеткам гладкой мускулатуры сосудов и обволакивают мелкие сосуды (рис. 23.32).

В отличие от кровеносных сосудов, лимфатические сосуды не так заметны для глаз. Они не переносят кровь и имеют гораздо более тонкие и проницаемые стенки, чем кровеносные сосуды. Они обеспечивают дренажную систему для оттока жидкости (лимфы), которая выходит из кровеносных сосудов, а также пути для миграции лейкоцитов, перемещающихся из кровеносных сосудов в ткани. К несчастью, зачастую они также служат путями, по которым раковые клетки разбегаются из первичной опухоли и заполняют другие ткани. Лимфатические сосуды образуют разветвленную систему рукавов и притоков, впадающих в конечном счете в единый крупный лимфатический сосуд — грудной проток, — который открывается в подключичные вены в области сердца. Как и кровеносные сосуды, лимфатические сосуды выстланы эндотелиальными клетками.

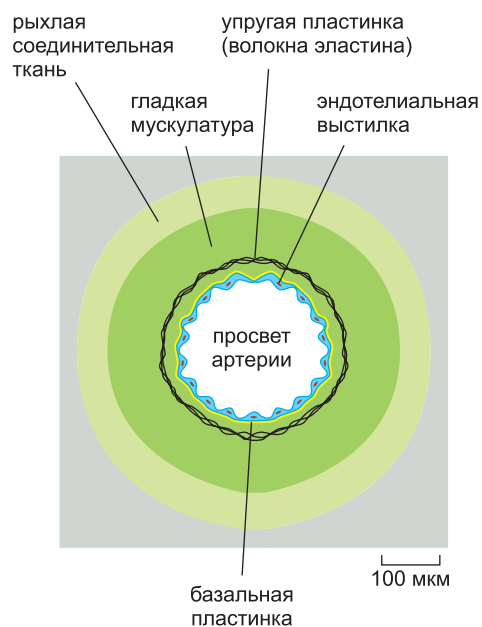


Рис. 23.30. Схема строения небольшой артерии в поперечном сечении. Эндотелиальные клетки, хотя и не приметны, являются фундаментальным компонентом сосудов. Сравните с капилляром на рис. 23.31.

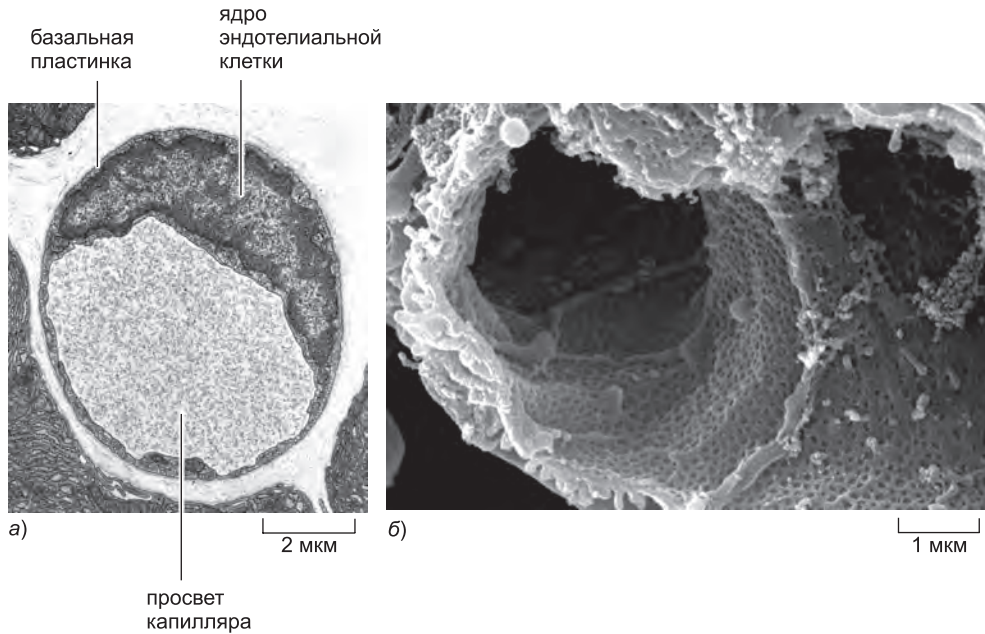


Рис. 23.31. Капилляры. а) Электронная микрофотография поперечного среза маленького капилляра поджелудочной железы. Стенка образована одной эндотелиальной клеткой, окруженной базальной пластинкой. б) Полученная сканирующая электронной микроскопией отография внутренней поверхности капилляра в почечном клубочке, где происходит фильтрация крови и образуется моча. Здесь, как и в печени (см. рис. 23.28), эндотелиальные клетки специализированы на формирование ситовидной структуры с окнами, построенными, скорее, наподобие пор в ядерной оболочке клеток эукариот и позволяющими свободно проходить воде и большинству молекул из кровотока. (Снимок а заимствован из R. P. Bolender, *J. Cell Biol.* 61: 269–287, 1974. С любезного разрешения издательства The Rockefeller University Press; фотография б любезно прислана Steve Gschmeissner и David Shima.)

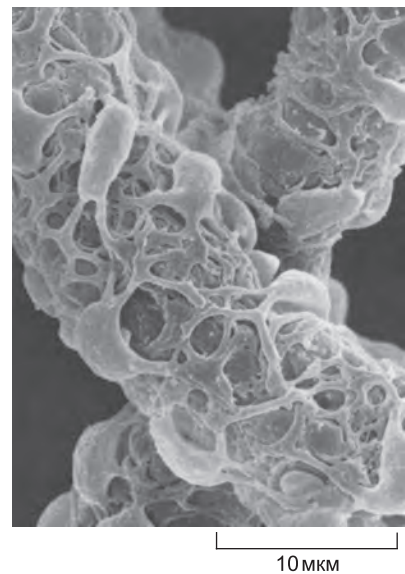


Рис. 23.32. Перициты. На микрофотографии, полученной на сканирующем электронном микроскопе, показаны перициты, оплетающие своими отростками маленький кровеносный сосуд (посткапиллярную венулу) в молочной железе кошки. Перициты присутствуют также и вокруг капилляров, но рассеяны гораздо сильнее. (Снимок заимствован из T. Fujiwara and Y. Uehara. *Am. J. Anat.* 170: 39–54, 1984. С любезного разрешения издательства Wiley-Liss.)

Таким образом, эндотелиальные клетки выстилают всю систему кровеносных и лимфатических сосудов, от сердца до самого тонкого капилляра, и управляют прохождением различных веществ — а также лейкоцитов — из тканей в кровоток и обратно. Артерии, вены и лимфатические сосуды развиваются из маленьких сосудов, построенных преимущественно из эндотелиальных клеток и базальной пластинки, но там, где это необходимо, под влиянием сигналов от эндотелиальных клеток на них наслаиваются соединительная ткань и гладкая мускулатура.

23.4.2. Эндотелиальные клетки окончаний кровеносных сосудов прокладывают дорогу для новых сосудов

Чтобы понять, как сосудистая система возникает и как она приспособляется к меняющимся потребностям тканей, нам придется изучить эндотелиальные клетки. Каким образом они рассредоточиваются по ткани и как они образуют каналы, которые соединяются только лишь надлежащим образом, чтобы кровь циркулировала по тканям, а лимфа поступала обратно в кровоток?

Эндотелиальные клетки образуются на определенных участках на ранних стадиях эмбрионального развития из клеток-предшественниц, дающих начало также и клеткам крови. Из этих участков эндотелиальные клетки мигрируют, разрастаются, дифференцируются и образуют первые зачатки кровеносных сосудов — то есть осуществляют процесс, получивший название *васкулогенез*. Последующий рост и ветвление сосудов по всему телу осуществляется главным образом за счет разрастания и перемещения эндотелиальных клеток этих первых сосудов в ходе процесса, названного **ангиогенезом**.

И в молодом организме, когда он растет, и во взрослом, в ходе восстановления и перестройки тканей, ангиогенез происходит очень похожим образом. Мы можем наблюдать поведение клеток в естественно прозрачных структурах тела, таких как роговица глаза или плавник малька, в культуре ткани или в зародыше. Удобным примером для экспериментального исследования является сетчатка зародыша, в которой кровеносные сосуды развиваются в полном соответствии с заданным природой планом. Каждый новый сосуд возникает в виде отростка на стенке существующего капилляра или маленькой венулы (рис. 23.33, а). На верхушке отростка, прокладывающего путь развивающемуся сосуду, находится специализированная эндотелиальная клетка. Такая *оконечная клетка* экспрессирует совсем не те гены, что характерны для идущих за ней эндотелиальных стебельковых клеток, и, в то время как они делятся, оконечная клетка к пролиферации не способна. Однако самая поразительная особенность оконечной клетки — то, что она выпускает много длинных филоподий, напоминающих отростки конуса нарастания нейрона (рис. 23.33, б). Тем временем стебельковые клетки образуют просвет растущего сосуда (см. рис. 23.33, а). Этот процесс можно наблюдать в прозрачном зародыше рыбки данио (*Danio rerio*) — внутренние вакуоли одних клеток соединяются с вакуолями соседних клеток и образуют непрерывную многоклеточную трубку.

Эндотелиальные оконечные клетки растущих капилляров не только напоминают собой конусы нарастания нейронов, но и реагируют на сигналы окружающей среды аналогичным образом. Фактически в этот процесс вовлечены многие путеводные молекулы: семафорины, нетрины, слиты и эфрины, — а также соответствующие рецепторы, экспрессирующиеся в оконечных клетках и направляющие рост капилляров по определенным маршрутам в тканях зародыша, зачастую параллельно

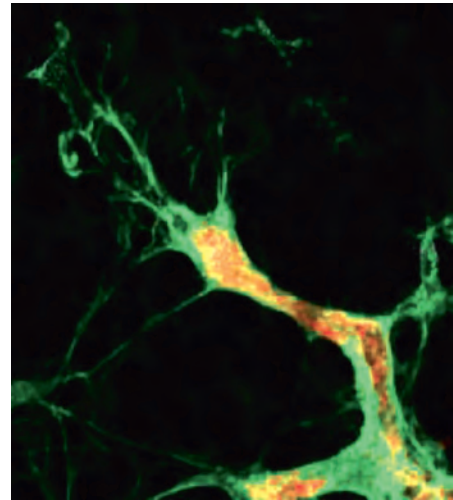
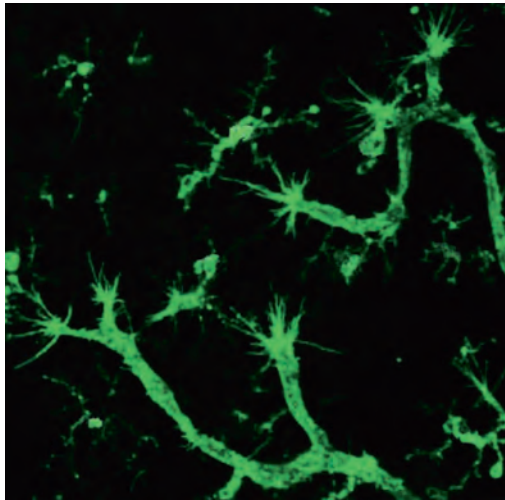
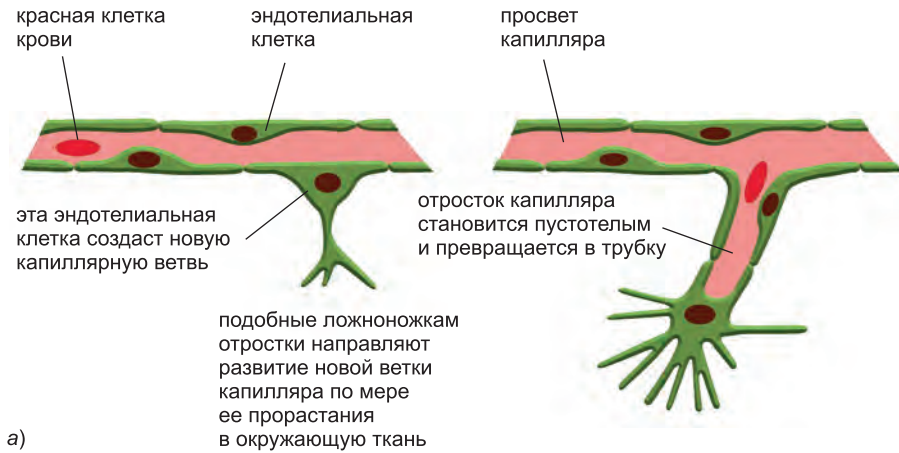


Рис. 23.33. Ангиогенез. а) Новый кровеносный капилляр образуется путем отрастания эндотелиальной клетки от стенки существующего маленького сосуда. Эндотелиальная оконечная клетка, со множеством филоподий, идет во главе каждого растущего капиллярного отростка. Эндотелиальные стебельковые клетки, идущие вслед за оконечной клеткой, становятся пустотелыми и образуют просвет. б) Кровеносные капилляры, прорастающие в сетчатке глаза мышиноного зародыша. в) Аналогичный образец, однако здесь в кровоток введен красный краситель, благодаря чему можно наблюдать, как просвет капилляра открывается позади оконечной клетки. (Снимки б и в заимствованы из H. Gerhardt et al., *J. Cell Biol.* 161: 1163–1177, 2003. С любезного разрешения издательства The Rockefeller University Press.)

с нервами. Однако наиболее важной путеводной молекулой для эндотелиальных клеток — специально предназначенный для управления развитием сосудов *фактор роста сосудистого эндотелия*, или *VEGF* (от англ. Vascular Endothelium Growth Factor). В дальнейшем у нас будет возможность поговорить о нем подробнее.

23.4.3. Из эндотелиальных клеток разного типа образуются сосуды разного вида

Чтобы создать новую сеть капилляров, отросток сосуда должен продолжать расти, пока не встретится с другим отростком или сосудом, с которым он может соединиться. Правила соединения должны быть избирательными, чтобы предотвратить образование нежелательных коротких разветвлений и поддерживать кровеносную и лимфатическую системы разобщенными. В действительности эндотелиальные клетки развивающихся артериальных, венозных и лимфатических сосудов экспрессируют разные гены и имеют разные поверхностные свойства. Очевидно, эти различия помогают направлять сосуды разных типов по разным путям, управлять избирательным образованием соединений и регулировать развитие стенок разного типа по мере удлинения сосуда. Например, эндотелиальные клетки артерий, по крайней мере в зародыше, экспрессируют трансмембранный белок эфрин В2, в то время как клетки вен экспрессируют соответствующий рецепторный белок EphB4 (упоминавшийся нами в главе 15). Эти молекулы опосредуют передачу сигналов между клетками и важны для правильного развития сети сосудов.

Экспрессия регуляторного гена Prox1 отличает эндотелиальные клетки лимфатических сосудов от артериальных и венозных эндотелиальных клеток. Этот ген включается в подгруппе эндотелиальных клеток в стенке крупной вены (кардинальная вена) в зародыше, преобразуя их в предшественниц лимфатических сосудов. Из них при помощи описанного ранее способа образования боковых отростков формируется вся сеть лимфатических сосудов. Белок Prox1 заставляет лимфатические эндотелиальные клетки экспрессировать рецепторы другого белка из семейства «указывающих маршрут» молекул VEGF, а также рецепторы белков, которые препятствуют соединению лимфатических клеток с кровеносными сосудами.

23.4.4. Требующие кровоснабжения ткани высвобождают VEGF; отклик регулируется сигналами Notch между эндотелиальными клетками

Практически все клетки организма позвоночного животного расположены не далее 50–100 мкм от ближайшего кровеносного сосуда. Какой же механизм гарантирует разветвление системы кровеносных сосудов в самые отдаленные места организма? Каким образом она столь совершенно приспосабливается к локальным потребностям тканей, причем не только в ходе нормального развития, но также и в патологических случаях? Появление раны, например, вызывает разрастание капилляров в окрестности повреждения, чтобы обеспечить всем необходимым энергозатратный процесс восстановления ткани (рис. 23.34). Местные раздражители и инфекции также вызывают рост новых капилляров, большинство из которых исчезает, когда воспаление проходит. В случае злокачественных новообразований маленький образец опухолевой ткани, пересеженной на роговицу глаза, не имеющую в норме кровеносных сосудов, заставляет их быстро расти к имплантату от сосудистого края роговицы; как только сосуды достигнут опухоли, скорость ее роста резко возрастает.

Во всех этих примерах вторгающиеся эндотелиальные клетки откликаются на сигналы, посылаемые тканью, в которую они проникают. Существует несколько сигналов этого рода, главным из которых является **фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF)**, дальний родственник фактора роста тромбоцитов (TGF). Регуляция роста кровеносных сосудов, призванная обеспечивать соответствие кровоснабжения

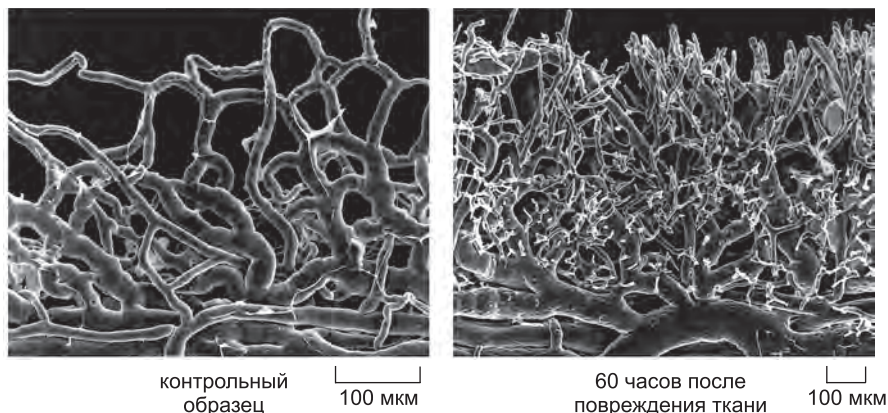


Рис. 23.34. Образование новых капилляров в ответ на повреждение. Полученные сканирующей электронной микроскопией фотографии слепков системы кровеносных сосудов, окружающих каемку роговицы, показывают реакцию на повреждение. Слпки сделаны посредством введения жидкой смолы в сосуды и последующего ее отвердевания; они показывают форму просвета, а не форму клеток. Спустя шестьдесят часов после повреждения образовалось множество новых капилляров, направленных к участку поранения, который находится прямо над верхним краем изображений. Их ориентированный рост отражает хемотаксисную реакцию эндотелиальных клеток на ангиогенный фактор, высвобождаемый в ране. (Снимки любезно предоставлены Peter C. Burger.)

потребностям ткани, основана на контроле за производством: через изменение стабильности его рРНК и скорости ее транскрипции. Последний механизм изучен довольно неплохо. Нехватка кислорода в клетках практически любого типа вызывает увеличение внутриклеточной концентрации регуляторного белка, называемого **индуцируемым гипоксией фактором 1 α** (HIF 1 α , от англ. Hypoxia-Inducible Factor 1 α). HIF 1 α стимулирует транскрипцию гена *Vegf* (и других генов, продукты которых необходимы в случае нехватки кислорода). Белок VEGF выделяется, диффундирует по ткани (при этом разные изоформы VEGF диффундируют с разной скоростью) и воздействует на близлежащие эндотелиальные клетки, побуждая их разрастаться, производить протеазы (помогающие им образовывать проходы в базальной пластинке родительского капилляра или вены) и образовывать отростки. Оконечные клетки отростков чувствуют градиент концентрации VEGF и движутся к его источнику. (Другие факторы роста, в том числе некоторые члены семейства факторов роста фибробластов, также могут стимулировать ангиогенез, опосредствуя реакции на другие воздействия, например воспаление.)

По мере образования новых сосудов, приносящих кровь к ткани, концентрация кислорода повышается, активность HIF 1 α снижается, производство VEGF выключается, и ангиогенез приостанавливается (**рис. 23.35**). Как и во всех сигнальных системах, столь же важно вовремя выключать сигнал, как и включать его. В нормальной хорошо снабжаемой кислородом ткани непрерывная деградация белка HIF 1 α приводит к поддержанию его концентрации на низком уровне: в присутствии кислорода кислород-зависимый фермент модифицирует HIF 1 α таким образом, что он становится подвержен протеолизу. Для осуществления деградации, в свою очередь, требуется продукт другого гена, кодирующего E3 убиквитинлигазу, которая дефектна при редком расстройстве, называемом *болезнью Хиппеля–Линдау* (VHL). Люди с этим расстройством рождаются только с одной функциональной

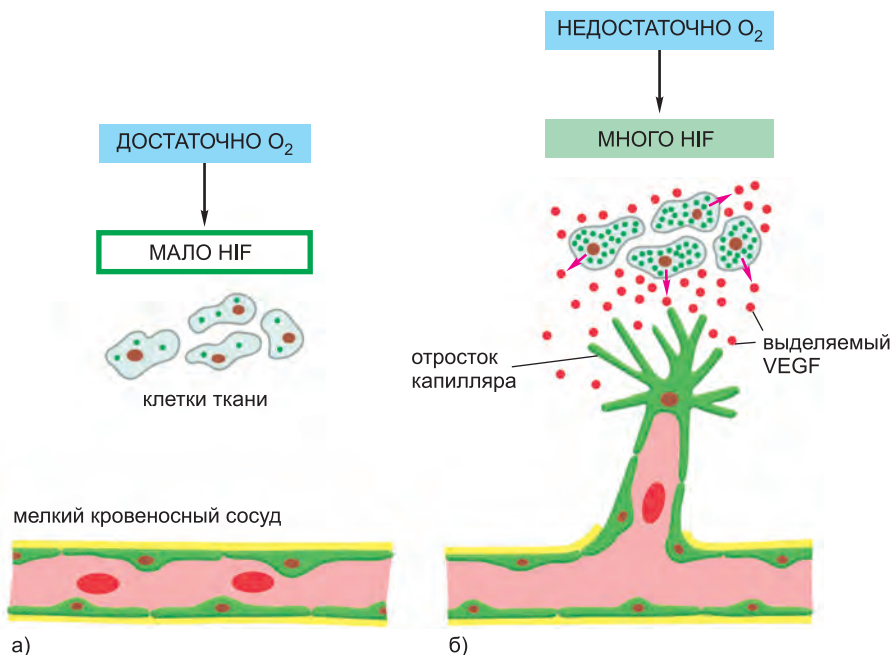


Рис. 23.35. Регуляторный механизм, управляющий ростом кровеносных сосудов согласно потребности ткани в кислороде. Кислородное голодание запускает выделение VEGF, который стимулирует ангиогенез.

копией гена *Vhl*; в результате случайных мутаций, происходящих в организме, могут образоваться клетки, в которых обе копии этого гена будут дефектными. Такие клетки содержат большие количества HIF1 независимо от имеющегося количества кислорода, что обуславливает неконтролируемое перепроизводство VEGF. В результате развиваются *гемангиобластомы* — опухоли, состоящие из уплотненных массивов кровеносных сосудов. Мутантные клетки, производящие VEGF, из-за обилия кровеносных сосудов избыточно обеспечены питательными веществами, что способствует их росту, — так образуется замкнутый круг, способствующий быстрому росту опухоли. Потеря продукта гена *Vhl* вызывает, наряду с гемангиобластомами, развитие и других опухолей, механизмы роста которых могут быть никак не связаны с регулирующей ангиогенеза.

Однако это далеко не полная картина управления ангиогенезом. VEGF и родственные ему факторы, вырабатываемые целевой тканью, необходимы для стимуляции ангиогенеза и направления роста сосудов по определенным маршрутам, однако не менее важную роль в этом процессе играют взаимодействия между эндотелиальными клетками, опосредуемые сигнальным путем Notch. Эти взаимодействия определяют, какие клетки будут выбраны в качестве окончательных и станут наращивать филоподии и ползти вперед, создавая новые отростки сосудов, а также нужны для того, чтобы уменьшить их подвижность, когда придет время остановить рост сосудов. Так, когда эндотелиальные отростки встречаются и соединяются между собой, образуя новый узел в сети сосудов, взаимодействия между ними прекращаются — чтобы уменьшить активность окончательных клеток по образованию отростков. Этот эффект зависит от специфического лиганда белка Notch,

называемого Delta4, который экспрессируется в окончных клетках и активирует сигналы Notch в «соседях»; активация сигнального пути Notch ведет к пониженной экспрессии рецепторов белка VEGF, в результате чего эти клетки становятся невосприимчивыми к действию фактора роста. В случае нарушения сигнального пути Notch рост сосудов продолжается неконтролируемо долго и не ограничивается окончными клетками. В результате образуется чрезвычайно плотная сеть плохо организованных, нефункциональных сосудов, которые обеспечивают лишь скудный кровоток или вообще не могут его обеспечить.

23.4.5. Сигналы от эндотелиальных клеток управляют привлечением перицитов и клеток гладкой мускулатуры для образования стенки сосуда

Во время роста и адаптации сосудистая сеть непрерывно перестраивается. Недавно образованный сосуд может увеличиться, или выбросить боковые ветви, или же рассосаться. Клетки гладкой мускулатуры и соединительной ткани, обволакивающие эндотелий (см. рис. 23.32), помогают стабилизировать сосуды во время их роста. Такой процесс формирования стенки сосуда начинается с активации перицитов. Небольшое число этих клеток перемещается вслед за стебельковыми клетками каждого эндотелиального отростка. Активация и пролиферация перицитов и клеток гладкой мускулатуры, необходимых для образования стенки сосуда, зависят от белка PDGF-В, выделяемого эндотелиальными клетками, и от рецепторов PDGF в перицитах и клетках гладкой мускулатуры. У мутантов, не имеющих этого сигнального белка или его рецептора, клетки сосудистой стенки во многих областях отсутствуют. В результате в зарождающихся кровеносных сосудах образуются развивают микроаневризмы — микроскопические патологические расширения, которые в конечном счете прорываются, — а также иные отклонения. Все это свидетельствует о важности сигналов, передаваемых в обоих направлениях между внешними клетками стенки сосуда и эндотелиальными клетками.

После того как сосуд сформируется, сигналы от эндотелиальных клеток к окружающей соединительной ткани и гладкой мускулатуре продолжают регулировать функцию и структуру сосуда. Например, эндотелиальные клетки имеют механорецепторы, которые позволяют им ощущать напряжение, создаваемое потоком крови, омывающей их поверхность. Клетки реагируют на него, производя и секретируя оксид азота, NO, тем самым посылая сигнал окружающим клеткам и индуцируя изменения в диаметре сосуда и толщине стенки, — чтобы вместить поток крови. Вдобавок к этому эндотелиальные клетки опосредуют быстрые ответные реакции на сигналы нервной системы к расширению кровеносного сосуда — выпускают NO, что оказывает расслабляющее действие на гладкую мускулатуру сосудистой стенки, как это описано в главе 15.

Заключение

Эндотелиальные клетки — основополагающие элементы системы сосудов. Они образуют одноклеточный слой, выстилающий все кровеносные и лимфатические сосуды, и регулируют обмен веществ между кровотоком и окружающими тканями. Новые сосуды возникают в виде эндотелиальных отростков от стенок существующих мелких сосудов. Специализированная подвижная эндотелиальная оконечная клетка на переднем крае каждого отростка вы-

пускает филоподии, которые реагируют на градиенты сигнальных молекул в окружающей ткани, направляя рост отростка подобно конусу нарастания нейрона. Эндотелиальные стебельковые клетки, идущие позади них, образуют полую трубку капилляра. Эндотелиальные клетки развивающихся артерий, вен и лимфатических сосудов экспрессируют разные белки клеточной поверхности, которые определяют топологию их соединений и позволяют создавать полноценные сети сосудов. Сигналы от эндотелиальных клеток организуют рост и развитие клеток соединительной ткани, которые формируют слои, окружающие стенки сосудов.

Механизм гомеостаза обеспечивает проникновение кровеносных сосудов во все области тела. Клетки, которым не хватает кислорода, активируют производство индуцируемого гипоксией фактора транскрипции (HIF 1 α), который стимулирует экспрессию гена фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF). VEGF воздействует на эндотелиальные клетки, побуждая их разрастаться и вторгаться в испытывающую кислородное голодание ткань, чтобы обеспечить ее новыми кровеносными сосудами. Кроме того, эндотелиальные клетки взаимодействуют друг с другом через сигнальный путь Notch для ограничения числа окончательных клеток и для приостановки ангиогенеза, после того как окончательные клетки встречаются друг с другом.

23.5. Обновление мультипотентных стволовых клеток: образование клеток крови

Кровь состоит из клеток многих типов, выполняющих множество различных функций: от переноса кислорода до производства антител. Одни клетки остаются в кровеносной системе, в то время как другие используют ее только как средство передвижения и выполняют свои функции за ее пределами. Однако в биографиях всех клеток крови имеются некоторые общие факты. Все они имеют ограниченный срок существования и производятся на протяжении всей жизни животного. Наиболее примечательно, что все они порождаются одним типом стволовых клеток, находящихся в костном мозге. Таким образом, эта *гематопoэтическая* (иначе называемая кроветворной, реже — *гемопоэтической*) стволовая клетка мультипотентна и дает начало дифференцированным клеткам крови всех типов, а также клеткам некоторых других типов, таким как остеокласты кости, о которых мы поговорим позже.

Клетки крови можно классифицировать на красные и белые (рис. 23.36). **Красные клетки крови**, или **эритроциты**, остаются в пределах кровеносных сосудов и переносят O₂ и CO₂, связанные с гемоглобином. **Белые клетки крови**, или **лейкоциты**, борются с инфекцией, а в некоторых случаях фагоцитируют и переваривают мелкий мусор. В отличие от эритроцитов, лейкоциты должны быть способны проникать через стенки мелких кровеносных сосудов и мигрировать в ткани, чтобы выполнять свои функции. Кроме того, кровь содержит большое число **красных пластинок**, или **тромбоцитов**, которые представляют собой «миниклетки», — лишенные ядра фрагменты больших клеток костного мозга, называемых *мегакариоцитами*. Тромбоциты специфично прикрепляются к эндотелиальной выстилке поврежденных кровеносных сосудов, где помогают заделывать повреждения и способствуют свертыванию крови.

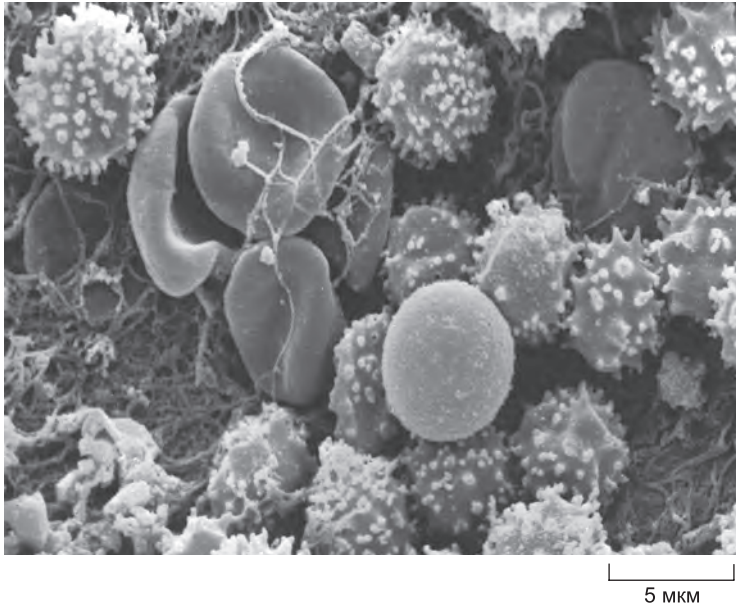


Рис. 23.36. Клетки крови млекопитающего в сгустке крови (микрофотография получена методом сканирующей электронной микроскопии). Более крупные шарообразные клетки с пупырчатой поверхностью — лейкоциты; более гладкие и плоские клетки — эритроциты. (Снимок любезно предоставлен Ray Moss.)

23.5.1. Три главные категории лейкоцитов: гранулоциты, моноциты и лимфоциты

Все эритроциты принадлежат к одному классу, в ходе созревания следуют одному пути развития, то же самое верно и для тромбоцитов; но лейкоциты делятся на множество разных типов. Их традиционно подразделяют на три главные категории: гранулоциты, моноциты и лимфоциты — на основании того, как они выглядят в световой микроскоп.

Гранулоциты содержат множество лизосом и секреторных пузырьчков (или гранул) и подразделяются на три класса в зависимости от морфологии и свойств окрашивания этих органелл (рис. 23.37). Различия в окрашивании отражают отличия в химическом составе гранул и их функциях. *Нейтрофилы* (называемые также *полиморфоядерными лейкоцитами* ввиду их многодольчатых ядер) — гранулоциты самого распространенного типа; они фагоцитируют и уничтожают микроорганизмы, в первую очередь бактерии, и таким образом играют ключевую роль во врожденном иммунитете к бактериальной инфекции, что мы опишем подробнее в главе 25. *Базофилы* выделяют гистамин (а у некоторых организмов и серотонин) и опосредуют тем самым воспалительные реакции; они близкородственны *тучным клеткам (мастоцитам)*, которые живут в соединительных тканях, но также генерируются кроветворными стволовыми клетками. *Эозинофилы* помогают уничтожать паразитов и регулируют аллергические воспалительные реакции.

Как только **моноциты** покидают кровоток, (см. рис. 23.37, *г*) они созревают и превращаются в **макрофаги**, которые, наряду с нейтрофилами, являются главными «профессиональными фагоцитами» в организме. Как обсуждалось в главе 13, оба типа фагоцитов содержат специализированные лизосомы, которые, сливаясь с об-

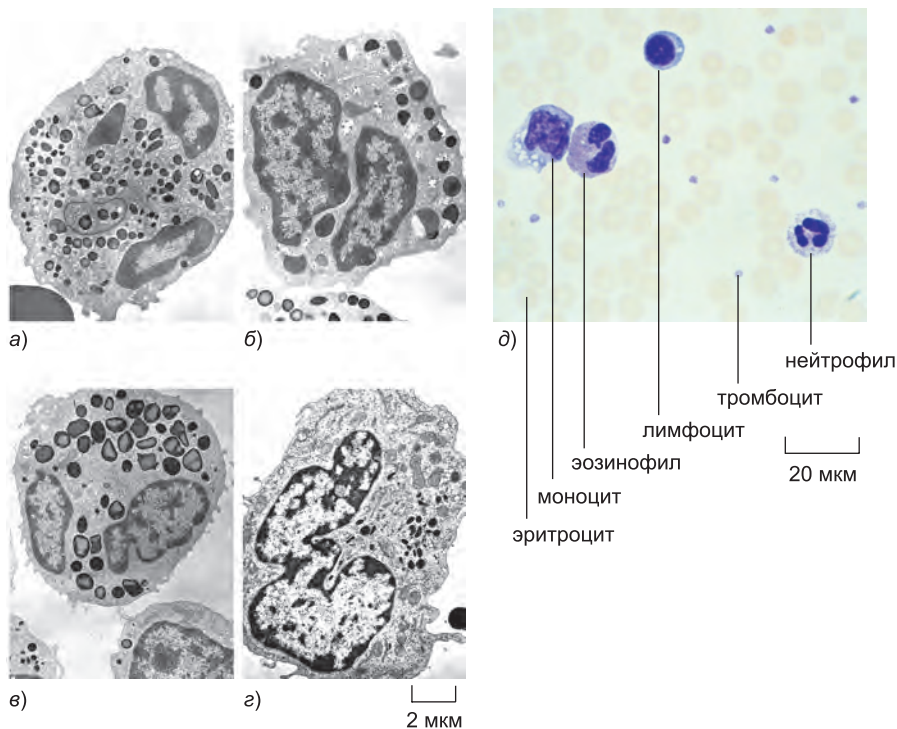


Рис. 23.37. Лейкоциты. На электронных микрофотографиях показаны: а) нейтрофил, б) базофил, в) эозинофил и г) моноцит. Соответствующие фотографии лимфоцитов представлены на рис. 25.7. Клетки каждого из показанных здесь типов имеют свою функцию, которая отражена характерным типом содержащихся в них секреторных гранул и лизосом. В этих клетках есть только одно ядро, но оно имеет неправильную многодольную форму, при этом на снимках а, б и в перемычки между долями лежат вне плоскости среза. д) Микрофотография мазка крови, окрашенного красителем Романовского, который ярко окрашивает лейкоциты. (Снимки а–г заимствованы из В. А. Nichols et al., *J. Cell Biol.* 50: 498–515, 1971. С любезного разрешения издательства The Rockefeller University Press; фотография д любезно прислана David Mason.)

разующимися фагоцитарными пузырьками (фагосомами), подвергают фагоцитированные микроорганизмы разрушительному действию ферментативно синтезированных чрезвычайно реактогенных перекисных радикала O_2^- и молекул гипохлорита ($HOCl$ — действующее вещество отбеливателей), а также концентрированной смеси лизосомных гидролаз, которые активируются в фагосоме. Однако макрофаги являются собой намного более крупные и долгоживущие клетки, чем нейтрофилы. Они узнают и удаляют состарившиеся, мертвые и поврежденные клетки во многих тканях и уникальны тем, что способны поглощать крупные микроорганизмы типа простейших.

Моноциты дают начало также и *дендритным клеткам*, таким как *клетки Лангерганса*, рассеянным в эпидермисе. Подобно макрофагам, дендритные клетки представляют собой мигрирующие клетки, способные поглощать инородные вещества и организмы; однако их функция не ограничивается фагоцитозом: они специализируются на предъявлении чужеродных антигенов лимфоцитам, опосредующим иммунный ответ. К примеру, клетки Лангерганса поглощают чужеродные антигены в эпидермисе и переносят эти «трофеи» в лимфатические узлы для активации находящихся там лимфоцитов.

Лимфоциты делятся на два основных класса, причем и те, и другие участвуют в иммунных реакциях: *В-лимфоциты* вырабатывают антитела, в то время как *Т-лимфоциты* убивают зараженные вирусами клетки и руководят действиями других лейкоцитов. Кроме того, существуют подобные лимфоцитам клетки, называемые *естественными*, или *натуральными*, *клетками-киллерами (NK-клетками)*, которые убивают опухолевые клетки некоторых типов и зараженные вирусами клетки. Развитие новых лимфоцитов — особая тема, которую мы подробно рассмотрим в главе 25. Здесь же мы главным образом сосредоточимся на механизмах развития других клеток крови, нередко обобщаемых термином «**миелоидные клетки**».

В **таблице 23.1** приведены их функции.

Таблица 23.1. Клетки крови

| ТИП КЛЕТОК | ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ | ТИПИЧНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ В КРОВИ ЧЕЛОВЕКА, КЛЕТОК/ЛИТР |
|--|---|---|
| Красные клетки крови (эритроциты) | перенос O ₂ и CO ₂ | 5·10 ¹² |
| Белые клетки крови (лейкоциты) | | |
| <i>Гранулоциты</i> | | |
| Нейтрофилы (полиморфоядерные лейкоциты) | фагоцитоз и уничтожение вторгающихся в организм бактерий | 5·10 ⁹ |
| Эозинофилы | уничтожение более крупных паразитов и модулирование аллергических воспалительных реакций | 2·10 ⁸ |
| Базофилы | выделение гистамина (и серотонина у некоторых видов) в определенных иммунных реакциях | 4·10 ⁷ |
| <i>Моноциты</i> | становятся тканевыми макрофагами, которые фагоцитируют и переваривают вторгшиеся микроорганизмы и инородные тела, а также поврежденные и состарившиеся клетки | 4·10 ⁸ |
| <i>Лимфоциты</i> | | |
| В-клетки | вырабатывают антитела | 2·10 ⁹ |
| Т-клетки | уничтожают зараженные вирусом клетки и регулируют активность остальных лейкоцитов | 1·10 ⁹ |
| <i>Естественные клетки-киллеры (NK-клетки)</i> | убивают зараженные вирусом клетки и некоторые опухолевые клетки | 1·10 ⁸ |
| Тромбоциты (фрагменты клеток, появляющиеся из <i>мегакариоцитов</i> в костном мозге) | инициируют свертывание крови | 3·10 ¹¹ |

Примечание. В организме взрослого человека содержится около 5 литров крови, что равносильно 7% массы тела. Эритроциты составляют приблизительно 45% этого объема, а лейкоциты — около 1%, остальное — жидкая плазма крови.

23.5.2. В костном мозге производство каждого типа клеток крови регулируется независимо от других

Как правило, белые клетки крови предназначены для выполнения своих функций не в крови, а в других тканях; кровь попросту доставляет их туда, где они необходимы. Местная инфекция или рана в любой ткани быстро привлекает лейкоциты в пораженную область в ходе воспалительной реакции, которая помогает бороться с инфекцией или заживать рану.

Механизм воспалительной реакции сложен и управляется многими сигнальными молекулами, локально производимыми тучными клетками, нервными окончаниями, тромбоцитами и лейкоцитами, так же, как и активацией комплемента (рассмотренного в главах 24 и 25). Некоторые из этих сигнальных молекул воздействуют на близлежащие капилляры, побуждая эндотелиальные клетки слегка ослабить межклеточные контакты, тем самым облегчая прохождение лейкоцитов. При этом поверхность эндотелиальных клеток приобретает повышенное сродство к лейкоцитам. В результате они улавливаются эндотелием, подобно тому как липкая бумага ловит мух, затем могут выйти из кровеносного сосуда, протиснувшись между эндотелиальными клетками и воспользовавшись специальными ферментами, чтобы пробраться через базальную мембрану. Как обсуждалось в главе 19, первичное связывание с эндотелиальными клетками осуществляют рецепторы, называемые *селектинами*, тогда как более сильное связывание, нужное лейкоцитам для того, чтобы выбраться из кровеносного сосуда, опосредуют *интегрины* (см. рис. 19.19). Поврежденные или воспаленные ткани и местные эндотелиальные клетки выделяют другие молекулы, называемые *хемокинами*, которые являются хемоаттрактантами для определенных типов лейкоцитов. Под действием хемокинов такие лейкоциты они поляризуются и перемещаются к источнику аттрактанта. В результате всех этих процессов в поврежденную ткань мигрирует большое количество различных белых клеток крови (рис. 23.38).

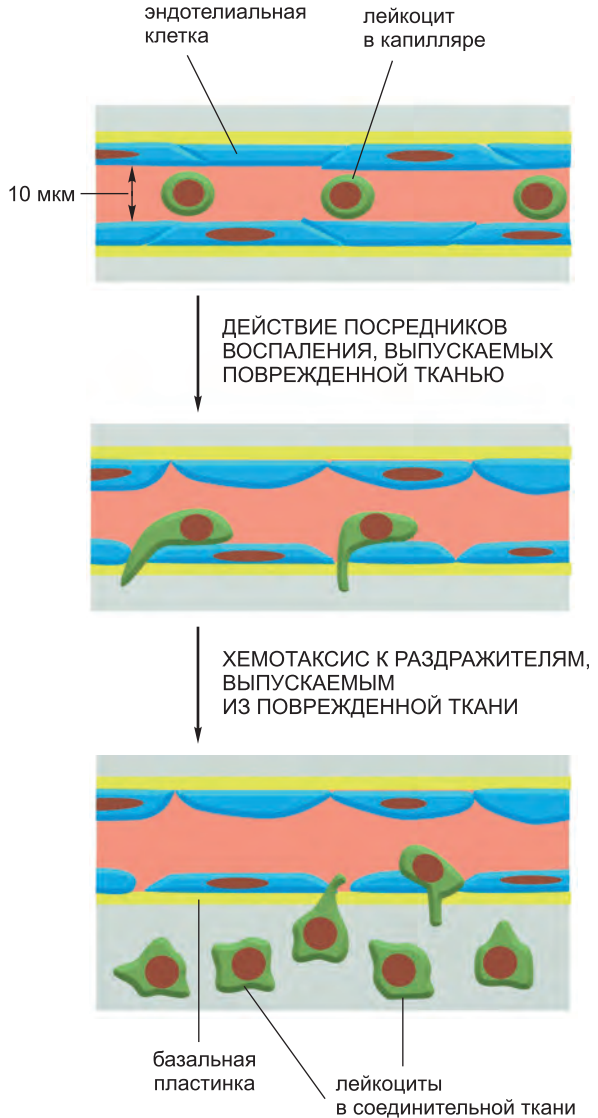
Другие сигнальные молекулы, производимые во время воспалительной реакции, попадают в кровь и стимулируют костный мозг производить больше лейкоцитов и выпускать их в кровоток. Именно костный мозг является главной мишенью для регуляции процессов, в которых задействованы клетки крови. Дело в том, что у взрослых млекопитающих именно костный мозг производит большинство типов клеток крови, за исключением лимфоцитов и некоторых видов макрофагов. Регуляция эта, как правило, специфична к типу клеток: например, некоторые бактериальные инфекции вызывают избирательное увеличение числа нейтрофилов, в то время как поражение некоторыми простейшими и другими паразитами вызывает избирательное увеличение числа эозинофилов. (По этой причине врачи, чтобы облегчить диагностику инфекционных и прочих воспалительных заболеваний, обычно прибегают к определению лейкоцитарной формулы крови.)

В других условиях, например в процессе акклиматизации к обедненному кислородом воздуху гор и возвышенностей, избирательно увеличивается производство эритроцитов. Так, в образовании клеток крови, или *гемопоэзе* (также называемом кроветворением или *гематопоезом*), обязательно участвуют сложные регуляторы, которые индивидуально регулируют производство клеток крови каждого типа, чтобы удовлетворять постоянно меняющимся потребностям организма. Понимание принципов работы этих регуляторов имеет большое значение для медицины.

Изучать процесс кроветворения *in vivo* гораздо сложнее, чем оборот клеток в ткани типа эпидермиса или выстилки кишечника, где простая и правильная

Рис. 23.38. Перемещение лейкоцитов из кровотока в ходе воспалительной реакции.

Реакция на воспаление инициируется сигнальными молекулами, производимыми клетками в области повреждения (главным образом в соединительной ткани), или за счет активации комплемента. Некоторые из таких посредников воздействуют на эндотелиальные клетки капилляров, вынуждая их ослабить контакты с соседями, — чтобы капилляры стали более проницаемыми. Эндотелиальные клетки стимулируют и экспрессию селектинов — молекул клеточной поверхности, которые распознают специфические углеводы на поверхности лейкоцитов крови, тем самым вынуждая последних приклеиваться к эндотелию. Воспаленные ткани и местные эндотелиальные клетки секретируют и других посредников, называемых хемокинами, которые играют роль хемоаттрактантов, заставляя связанные лейкоциты «проползать» между эндотелиальными клетками капилляра в ткань.



пространственная организация облегчает отслеживание процесса обновления и определение местонахождения стволовых клеток. Кровотворные ткани менее упорядочены. В то же время кроветворные клетки гораздо слабее привязаны к окружению и потому более доступны для экспериментального исследования другими методами. Скажем, можно легко получать суспензию кроветворных клеток и переносить их, без повреждений, от одного животного к другому.

Более того, пролиферацию и дифференцировку индивидуальных клеток и их потомков можно наблюдать и анализировать непосредственно в культуре, а анализ многочисленных молекулярных маркеров позволяет различать последовательные стадии дифференциации. Благодаря этому молекулы, управляющие производством клеток крови, изучены гораздо лучше, нежели те, которые контролируют производство клеток в других тканях млекопитающих. Исследования кроветворной системы легли в основу современных представлений о системах стволовых клеток в целом.

23.5.3. Костный мозг содержит кроветворные стволовые клетки

Стандартные методы окрашивания тканей позволяют нам различать в костном мозге как всевозможные клетки крови, так и их непосредственных предшественников

(рис. 23.39). В костном мозге все эти клетки перемешаны друг с другом, а также с жировыми клетками и другими клетками стромы (разновидности соединительной ткани), которые образуют тонкую сеть из опорных коллагеновых волокон и прочих компонентов внеклеточного матрикса. Кроме того, всю ткань костного мозга пронизывает большое число тонкостенных кровеносных сосудов, называемых *капиллярными синусами*, через которые в основной кровоток попадают новые клетки крови. Имеются в нем также и **мегакарициты**; в отличие от других клеток крови, после созревания они остаются в костном мозге и, будучи необычайно крупными (их диаметр может достигать 60 мкм) и полиплоидными, являются одними из наиболее примечательных компонентов костного мозга. Обычно они расположены рядом с капиллярными синусами, и их отростки проникают внутрь этих сосудов через отверстия в эндотелиальной выстилке; именно из этих отростков и поступают в кровоток тромбоциты (рис. 23.40).

Как правило, из-за сложной организации клеток в костном мозге, в обычных срезах тканей бывает трудно идентифицировать тип клеток, за исключением непосредственных предшественников зрелых клеток крови. На ранних стадиях развития, до того как начнется явная дифференцировка, все эти клетки выглядят очень похоже, и, хотя взаимное расположение в пространстве клеток разных типов в некоторой степени упорядочено, не удается выявить какие-либо очевидные признаки, по которым можно было бы идентифицировать исходные стволовые клетки. Для этого необходим функциональный анализ, предполагающий отслеживание свойств потомства отдельных клеток. Это может быть сделано *in vitro*: просто исследуя колонии, образуемые выделенными клетками. Однако кроветворная система позволяет осуществлять манипуляции, посредством которых удается опознавать клоны клеток *in vivo* в живом организме.

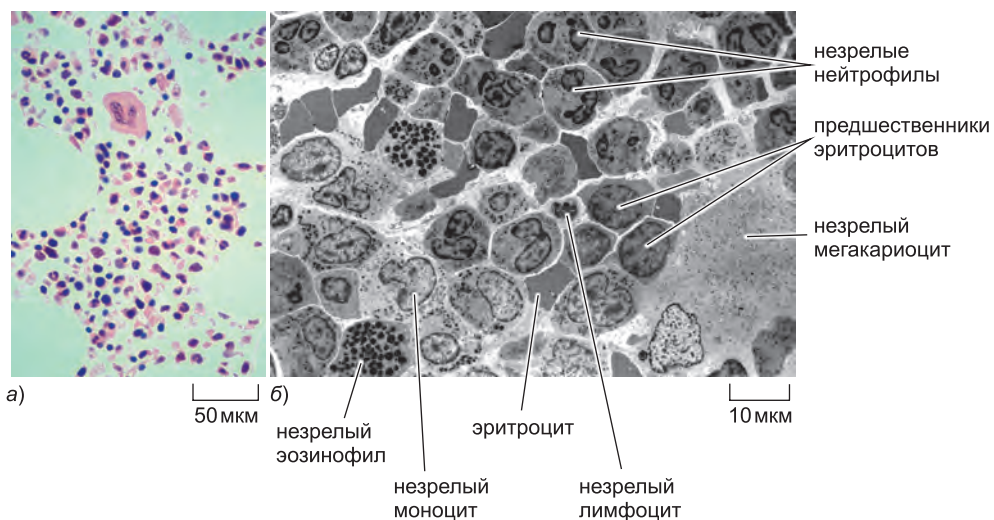


Рис. 23.39. Костный мозг. а) Световая микрофотография окрашенного среза. Обширные пустоты соответствуют жировым клеткам, содержимое которых растворили в ходе подготовки препарата. Гигантская клетка с многодольчатым ядром — мегакариоцит. б) Электронная микрофотография малого увеличения. Костный мозг — главный источник новых клеток крови (за исключением Т-лимфоцитов, производимых в тимусе). Обратите внимание, что незрелые клетки крови одного и того же специфического типа предпочитают объединяться вместе в «семейные группы». (Снимок а любезно предоставлен David Mason; фото б заимствовано из J. A. G. Rhodin, *Histology: A Text and Atlas*. New York: Oxford University Press, 1974.)

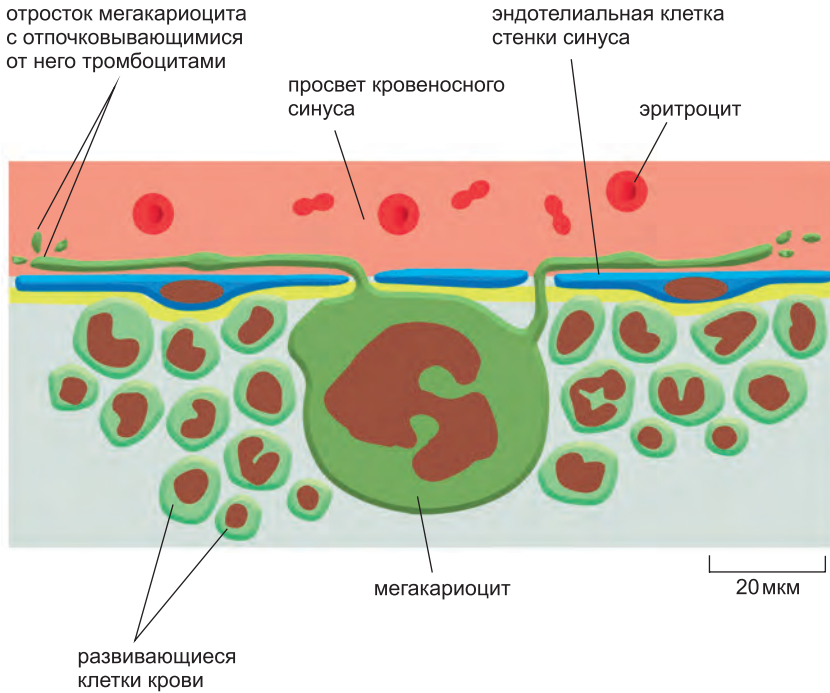


Рис. 23.40. Мегакариоцит среди других клеток в костном мозге. Его огромный размер обусловлен наличием высокополиплоидного ядра. Один мегакариоцит производит приблизительно 10 000 тромбоцитов, которые отделяются от длинных отростков, проходящих через отверстия в стенках смежных капиллярных синусов.

Если животное подвергнуть большой дозе рентгеновского излучения, большинство кроветворных клеток разрушается, и животное умирает в течение нескольких дней из-за неспособности производить новые клетки крови. Однако такое животное может быть спасено инъекцией клеток, взятых из костного мозга здорового, иммунологически совместимого донора. Среди этих клеток есть и те, которые могут заселить облученное животное обеспечить его новой кроветворной тканью (рис. 23.41). Эти эксперименты доказывают, что костный мозг содержит кроветворные стволовые клетки. Используя этот подход, мы можем анализировать наличие кроветворных стволовых клеток и, следовательно, изучать молекулярные особенности, отличающие их от других типов клеток.

С этой целью клетки, взятые из костного мозга, сортируют (при помощи метода FACS, описанного в главе 8) в зависимости от находящихся у них на поверхности антигенов и разные фракции вкалывают в облученных мышей. Если какая-нибудь из них спасает облученную мышшь, значит, эта фракция содержит кроветворные стволовые клетки. Таким образом удалось показать, что кроветворные стволовые клетки характеризуются определенной комбинацией белков клеточной поверхности, и путем соответствующей сортировки мы можем получить практически чистые препараты стволовых клеток. Оказалось, что стволовые клетки представлены лишь крошечной частью всей популяции клеток костного мозга: приблизительно 1 клетка из 10 000; но этого оказывается достаточно. Всего лишь пяти таких клеток, введен-

в результате рентгеновского облучения выработка клеток крови прекращается; без соответствующего лечения мышь умрет



Рис. 23.41. Спасение облученной мыши введением клеток костного мозга. Во многом аналогичная процедура используется при лечении лейкемии у человека путем пересадки костного мозга.

ных в облученную мышшь, оказывается достаточно, чтобы полностью воссоздать кроветворную систему, так как они могут производить полный набор клеток крови, а также умножать популяцию самих стволовых клеток.

23.5.4. Все виды клеток крови происходят от мультипотентных стволовых клеток

Чтобы узнать, какие типы клеток может произвести одна-единственная **кроветворная стволовая клетка**, нам необходим способ, позволяющий отслеживать судьбу ее потомков. Это можно сделать, вводя метку в индивидуальные стволовые клетки генетическими методами, с тем чтобы их потомки могли бы быть идентифицированы даже после

того, как окажутся в кровотоке. Хотя для этой цели можно использовать несколько подходов, наилучшим будет специально сконструированный ретровирус (ретровирусный вектор, несущий маркерный ген). Как и всякий ретровирус, наш модифицированный вирус может интегрировать свой геном в хромосомы заражаемой клетки, однако в дальнейшем он неспособен производить новые инфекционные вирусные частицы, так как в нем отсутствуют необходимые для этого вирусные гены. Поэтому такой маркер оказывается только лишь у потомства клеток, которые заражены, и потомство одной зараженной клетки можно отличить от потомства другой, так как места интеграции вируса в хромосомах будут различны. Чтобы проанализировать линии кроветворных клеток, клетки костного мозга заражают ретровирусным вектором *in vitro* и переносят в облученного смертельной дозой реципиента; затем при помощи ДНК-зондов отслеживают потомство индивидуальной зараженной клетки в различных кроветворных и лимфоидных тканях реципиента. Эти эксперименты показывают, что отдельно взятая кроветворная стволовая клетка *мультипотентна* и способна давать начало клеткам крови всех типов, как миелоидных, так и лимфоидных, а также себе подобным новым стволовым клеткам (рис. 23.42).

Далее в этой главе мы расскажем, как те же методы, которые разработаны для экспериментов над мышами, могут быть использованы для лечения болезней человека.

23.5.5. Выбор конечного состояния дифференцировки клетки определяется поэтапно

Процесс дифференцировки кроветворных стволовых клеток происходит в несколько стадий. Первым шагом обычно является выбор между миелоидным и лим-

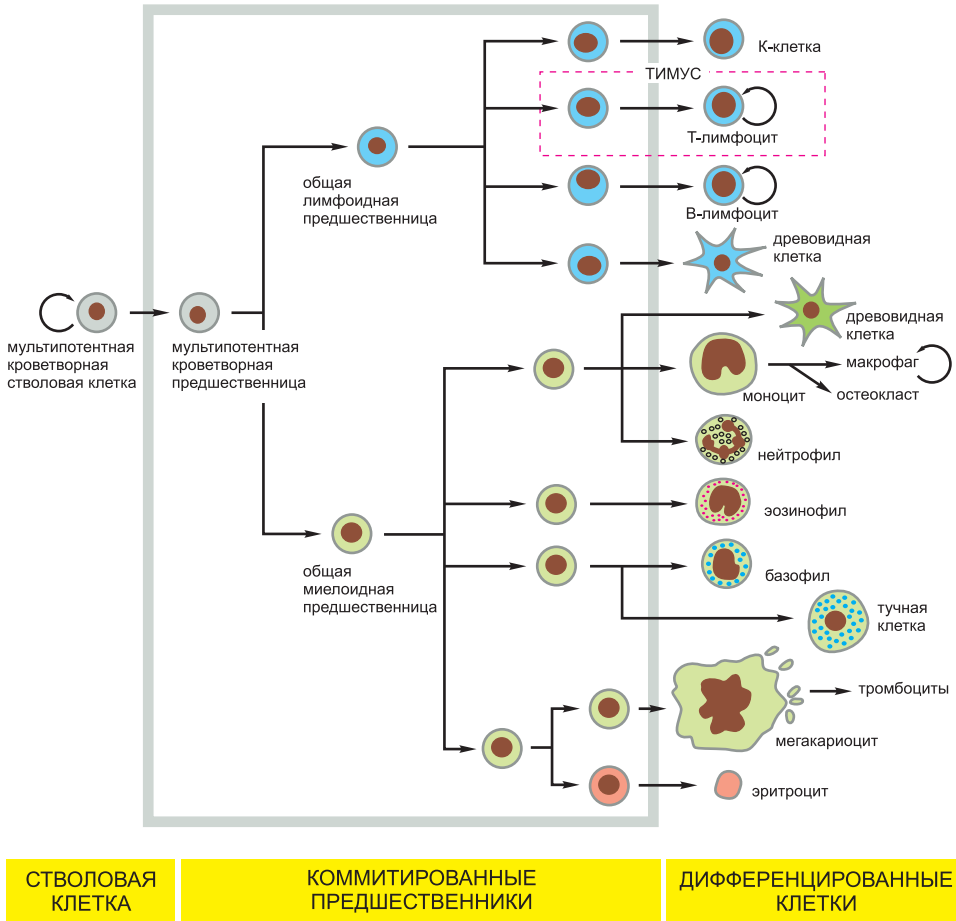


Рис. 23.42. Гипотетическая схема кроветворения. Мультипотенциальная стволовая клетка обычно делится нечасто и производит или больше мультипотентных стволовых клеток, которые самообновляются, или направленных клеток-предшественниц, которые могут делиться лишь ограниченное число раз перед окончательной дифференцировкой в зрелые клетки крови. По мере делений предшественницы последовательно становятся все более специализированными в отношении диапазона типов клеток, которые они могут производить, что отражено ветвлением схемы клеточной линии в области, охваченной серой рамкой. Однако в этой части схемы многие детали еще не определены. У взрослых млекопитающих все представленные на рисунке клетки развиваются главным образом в костном мозге — за исключением Т-лимфоцитов, которые развиваются в тимусе (вилочковой железе), а также макрофагов и остеокластов, которые развиваются из моноцитов крови. Некоторые дендритные клетки также могут происходить из числа моноцитов.

фоидным путями дифференцировки. На этой стадии, как полагают, берут начало клетки-предшественницы двух типов: одни способны производить большие количества миелоидных клеток всех типов и, возможно, миелоидные клетки и В-лимфоциты, а другие — порождать все разнообразие лимфоидных клеток или, по крайней мере Т-лимфоциты. Дальнейшие этапы дифференцировки дают начало клеткам-предшественницам, направленным на производство клеток какого-то одного типа. Отдельные стадии дифференцировки характеризуются изменениями в экспрессии определенных регуляторных белков, необходимых для производства различных типов

клеток крови. Эти белки, по всей видимости, работают сложным комбинаторным способом: например, белок *GATA1* необходим для созревания эритроцитов, но также он активен и на самых ранних этапах становления кроветворных клеток.

23.5.6. Число специализированных клеток крови увеличивается за счет деления коммитированных клеток-предшественников

Кроветворные клетки-предшественницы, как правило, выбирают специфический путь дифференцировки задолго до того, как прекращают делиться и окончательно дифференцируются. Им необходимо пройти множество делений, чтобы преумножить окончательное число клеток данного специализированного типа. Благодаря такому подходу одно-единственное деление стволовой клетки может завершиться производством тысяч дифференцированных потомков, чем и объясняется причина столь малого содержания кроветворных стволовых клеток во всей популяции. По той же причине высокая скорость производства клеток крови может поддерживаться даже при том, что скорость деления стволовых клеток низка. Как мы отмечали ранее, нечастое деление или покой — характерное свойство стволовых клеток во многих тканях. Сокращение числа циклов деления, которые стволовые клетки сами проходят на протяжении жизни организма, снижает риск возникновения мутаций стволовых клеток, которые дали бы начало постоянным клонам мутантных клеток в организме. Оно имеет также и другой эффект: уменьшается скорость старения при репликации (это старение мы обсуждали в главе 17). Фактически кроветворные стволовые клетки, которые стимулируются к постоянному быстрому делению (путем нокаута гена *Gfi1*, ответственного за ограничение скорости деления), оказываются не в состоянии поддерживать кроветворение в течение нормальной продолжительности жизни организма.

Поэтапный характер дифференцировки клеток означает, что кроветворная система может рассматриваться как иерархическое генеалогическое древо клеток. Мультипотентные стволовые клетки порождают *направленные (коммитированные) клетки-предшественницы*, предназначенные для создания клеток крови одного или нескольких типов. Они делятся быстро, но только лишь ограниченное число раз, прежде чем окончательно дифференцируются в клетки, которые больше не делятся и умирают после нескольких дней или недель выполнения своих окончательных функций. Многие клетки умирают также и на ранних этапах созревания. Исследования в культуре дают возможность узнать, как регулируются процессы пролиферации, дифференцировки и смерти кроветворных клеток.

23.5.7. Стволовые клетки зависят от контактных сигналов, исходящих от клеток стромы

Кроветворные клетки могут выживать, разрастаться и дифференцироваться в культуре тогда и только тогда, когда они обеспечены определенными сигнальными белками или сопровождаются клетками, которые производят эти белки. Будучи лишенными таких белков, клетки умирают. Кроме того, для долгосрочного поддержания, кажется, необходим контакт с соответствующими опорными клетками: кроветворение может непрерывно поддерживаться *in vitro* в течение многих месяцев или даже лет путем культивирования кроветворных клеток костного мозга, рассредоточенных на слое его стромальных клеток, что имитирует среду костного мозга в естественных условиях. Такие культуры могут производить миелоидные клетки всех

типов, а их длительное существование свидетельствует о том, что наряду с дифференцированным потомством непрерывно производятся и сами стволовые клетки.

В костном мозге, где они обычно живут, кроветворные стволовые клетки преимущественно расположены в тесном контакте с *остеобластами*, которые выстилают поверхности костномозговой полости, — клетками, что производят матрикс кости. Обработка и мутации, которые увеличивают или уменьшают число остеобластов, вызывают соответствующие изменения числа кроветворных стволовых клеток. Исходя из этого можно предположить, что остеобласты обеспечивают сигналы, необходимые кроветворным стволовым клеткам для поддержания себя в состоянии мультипотентных стволовых клеток, так же как кишечная крипта посылает сигналы, необходимые для поддержания стволовых клеток кишечного эпителия. В обеих системах стволовые клетки обычно ограничены специфической нишей, и по оставлении этой ниши они, как правило, теряют свой потенциал стволовых клеток (рис. 23.43). Кроветворные стволовые клетки костного мозга, как и всех остальных тканей, часто бывают связаны и со специализированными эндотелиальными клетками, которые могут обеспечить им альтернативную нишу.

Ключевая особенность ниши стволовых клеток костного мозга, как и аналогичной ниши в кишечнике, состоит в том, что она обеспечивает активацию сигнального пути Wnt. Искусственная активация этого пути в культивируемых кроветворных стволовых клетках помогает им выживать, разрастаться и сохранять свой стволовой характер, тогда как блокировка сигналов Wnt приводит к обратному эффекту. Еще одно взаимодействие, которое является важным для поддержания системы кроветворения, было обнаружено в ходе анализа мутантных мышей с любопытным сочетанием дефектов: нехватки эритроцитов (анемия), первичных половых клеток (бесплодие) и пигментных клеток (белая пятнистость кожи; см. рис. 22.86). Как показано в главе 22, этот синдром проявляется из-за мутаций в одном из двух генов: один, называемый *Kit*, кодирует рецепторную тирозинкиназу; другой кодирует ее лиганд. Клетки всех затрагиваемых такими мутациями типов происходят от мигрирующих пред-

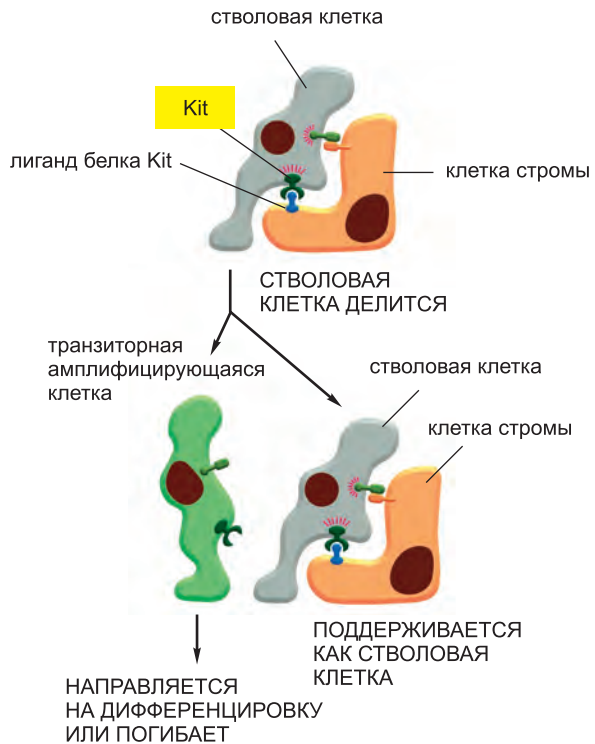


Рис. 23.43. Зависимость кроветворных стволовых клеток от контакта с клетками стромы. Зависящее от контакта взаимодействие между белком Kit и его лигандом — один из нескольких сигнальных механизмов, которые, как полагают, участвуют в поддержании кроветворных стволовых клеток. Реальная система, конечно, сложнее; зависимость кроветворных клеток от контакта с клетками стромы не может быть абсолютной, так как малое число работоспособных стволовых клеток встречается в свободном виде в кровотоке.

шественниц, и, по всей видимости, во всех случаях, когда требуется, чтобы эти предшественницы жили и производили потомство в нормальных количествах, они должны экспрессировать рецептор и получать из своего окружения сигнал в виде лиганда к нему. Исследования мутантных мышей показали, что для эффективного узнавания лиганды рецептора Kit должны быть связаны с мембраной, из чего следует, что для нормального кроветворения необходим прямой контакт между кроветворными клетками, экспрессирующими рецептор Kit, и стромальными клетками (с рассеянными среди них остеобластами), экспрессирующими его лиганд.

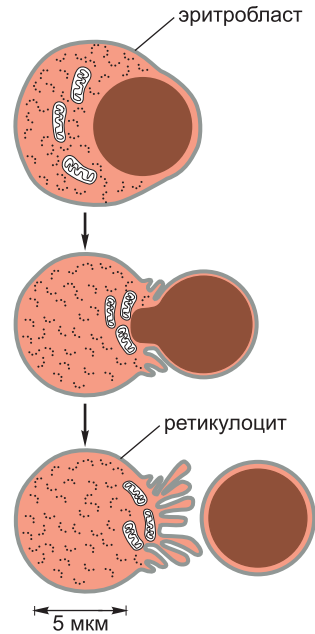
23.5.8. Факторы, регулирующие кроветворение, можно проанализировать в культуре клеток

Хотя сами стволовые клетки зависят от контакта со стромальными клетками для длительного поддержания своей жизнедеятельности, их дифференцирующееся потомство в нем не нуждается или по крайней мере зависит в меньшей степени. Так, рассредоточенные кроветворные клетки костного мозга можно культивировать в полутвердом матриксе из разбавленного агара или метилцеллюлозы, а в среду искусственно вводить факторы, полученные из других клеток. Поскольку клетки в полутвердом матриксе не могут мигрировать, потомство каждой изолированной клетки-предшественницы остается вместе в виде легко различимой колонии. Например, один-единственный направленный предшественник нейтрофила может дать начало колонии, состоящей из тысяч дифференцированных нейтрофилов. Такие системы культивирования клеток позволили проанализировать факторы, поддерживающие кроветворение, и, как следствие, дали возможность выделять их и исследовать их действие. Эти вещества представлены гликопротеинами, и обычно их называют **колониестимулирующими факторами (CSF, colony-stimulating factors)**. Из постоянно растущего числа выделенных и охарактеризованных CSF некоторые циркулируют в крови и выступают в роли гормонов, в то время как другие работают в костном мозге в качестве местных переносчиков сигналов или же, подобно лиганду белка Kit, в роли связанных с мембраной сигналов, действующих через межклеточный контакт. Наиболее изученным из CSF, выступающих в роли гормонов, является гликопротеин эритропоэтин, который производится в почках и регулирует *эритропоэз* — образование эритроцитов.

23.5.9. Эритропоэз зависит от гормона эритропоэтина

Самые многочисленные клетки крови — это, безусловно, эритроциты (см. табл. 23.1). В зрелой форме они полностью заполнены гемоглобином и почти не содержат обычных клеточных органелл. В эритроците взрослого млекопитающего отсутствуют даже ядро, эндоплазматическая сеть, митохондрии и рибосомы, все они выбрасываются из клетки в ходе ее развития (**рис. 23.44**). Поэтому эритроцит не способен расти и делиться; единственный возможный способ воспроизводить новые эритроциты заключается в использовании стволовых клеток. Более того, эритроциты имеют ограниченный срок жизни — около 120-ти дней у человека и около 55-ти дней у мыши. Выработавшие свой ресурс эритроциты фагоцитируются и перевариваются макрофагами в печени и селезенке: в каждом из нас ежедневно погибает более 10^{11} состарившихся эритроцитов. Вновь образовавшиеся эритроциты защищены от подобной участи: они презентуют на своей поверхности белок, связывающийся с ингибиторным рецептором на поверхности макрофагов и тем самым предотвращает фагоцитоз.

Рис. 23.44. Развивающаяся красная клетка крови (эритробласт). Клетка показана на стадии выталкивания своего ядра и превращения в незрелый эритроцит (ретикулоцит), который затем оставляет костный мозг и выходит в кровоток. Далее, в течение одного-двух дней, ретикулоцит потеряет свои митохондрии и рибосомы и превратится в зрелый эритроцит. Клоны эритроцитов развиваются в костном мозге на поверхности макрофагов, которые фагоцитируют и переваривают ядра, отторгаемые эритробластами.



Недостаток кислорода или нехватка эритроцитов стимулирует находящиеся в почках специализированные клетки синтезировать и выделять в кровоток повышенные количества **эритропоэтина**. Эритропоэтин в свою очередь стимулирует производство большего числа эритроцитов. Из того, что изменение скорости появления новых эритроцитов в кровотоке наблюдается уже спустя 1-2 дня после увеличения уровня эритропоэтина, становится ясно, что этот гормон воздействует на клетки, являющиеся довольно близкими предшественниками зрелых эритроцитов.

Клетки, реагирующие на эритропоэтин, могут быть идентифицированы путем культивирования клеток костного мозга на полутвердом матриксе в присутствии эритропоэтина. Через несколько дней появляются колонии, состоящие примерно из 60-ти эритроцитов, каждая из которых основана единственной эритроидной клеткой-предшественницей. Выживание и пролиферация клетки-предшественницы зависит от эритропоэтина. Она еще не содержит гемоглобина и происходит от направленной эритроидной предшественницы, которая не зависит от эритропоэтина.

Второй CSF, получивший название **интерлейкин-3 (IL3)**, способствует выживанию и пролиферации более ранних эритроидных клеток-предшественниц. В его присутствии из культивируемых клеток костного мозга развиваются намного более крупные колонии эритроидных клеток, включающие до 5000 эритроцитов каждая (весь процесс занимает от недели до 10-ти дней). Вполне очевидно, что потомки кровяных стволовых клеток, после того как они встали на путь эритроидной дифференцировки, должны пройти через длинную программу делений, изменяя свой характер и зависимость от сигналов окружающей среды по мере продвижения к окончательному дифференцированному состоянию.

23.5.10. Производство нейтрофилов и макрофагов регулируется многими колониестимулирующими факторами

Два класса фагоцитов — нейтрофилы и макрофаги — развиваются из общего для них предшественника, получившего название клетки-предшественницы **гранулоцитов и макрофагов (GM-клетка)**. Подобно другим гранулоцитам (эозинофилам и базофилам), нейтрофилы циркулируют в крови в течение нескольких часов перед перемещением из капилляров в соединительные ткани или другие определенные участки тела, где они живут всего лишь несколько дней. Затем они умирают и в результате фагоцитируются макрофагами. Макрофаги, напротив, могут сохраняться в течение многих месяцев, а возможно, даже и лет, вне кровотока, где они могут быть затем активированы локальными сигналами и возобновить пролиферацию.

В настоящее время известно по крайней мере семь разных CSF, стимулирующих формирование колоний нейтрофилов и макрофагов в культуре, и некоторые из них, или даже все, действуют в различных комбинациях для регулирования избирательного производства этих клеток *in vivo*. Эти CSF продуцируются клетками разных типов (включая эндотелиальные клетки, фибробласты, макрофаги и лимфоциты), и в ответ на бактериальную инфекцию их концентрация в крови быстро увеличивается, тем самым увеличивая число фагоцитов, высвобождаемых из костного мозга в кровотоки. Один из наименее специфичных факторов такого рода, IL3, действует на мультипотентные стволовые клетки и на коммитированные клетки-предшественницы большинства классов, включая GM клетки-предшественницы. Другие факторы более избирательно воздействуют на GM клетки-предшественницы и их дифференцированное потомство (табл. 23.2), хотя во многих случаях они действуют также и на другие клетки гематopoэтического древа (рис. 23.42).

Все эти CSF, подобно эритропоэтину, являются гликопротеинами, которые работают в низких концентрациях (приблизительно 10^{-12} моль/литр), связываясь с определенными рецепторами на поверхности клеток (мы разбирали это в главе 15). Некоторые из этих рецепторов являются трансмембранными тирозинкиназами, но большинство принадлежит к большому семейству рецепторов цитокинов, члены которого обычно состоят из двух и более субъединиц, одна из которых нередко является общей для рецепторов нескольких типов (рис. 23.45). CSF воздействуют не только на клетки-предшественницы для стимуляции производства дифференцированного потомства, но они также активируют специализированные функции (типа

Таблица 23.2. Некоторые колониестимулирующие факторы (CSF), влияющие на образование клеток крови

| ФАКТОР | ЦЕЛЕВЫЕ КЛЕТКИ | ВЫРАБАТЫВАЮЩИЕ КЛЕТКИ | РЕЦЕПТОРЫ |
|---|--|---|------------------------------------|
| Эритропоэтин | CFS-E (колониеобразующие клетки E) | клетки почек | семейство цитокинов |
| Интерлейкин 3 (IL3) | мультипотентные стволовые клетки, большинство клеток-предшественниц, многие окончательно дифференцированные клетки | T-лимфоциты, клетки эпидермиса | семейство цитокинов |
| Гранулоцитарно-макрофагальные CSF (GMCSF) | клетки-предшественницы гранулоцитов и макрофагов | T-лимфоциты, эндотелиальные клетки, фибробласты | семейство цитокинов |
| Гранулоцитарные CSF (GCSF) | клетки-предшественницы гранулоцитов и макрофагов и нейтрофилы | макрофаги, фибробласты | семейство цитокинов |
| Макрофагальные CSF (MCSF) | клетки-предшественницы гранулоцитов и макрофагов и макрофаги | фибробласты, макрофаги, эндотелиальные клетки | семейство рецепторных тирозинкиназ |
| Лиганд белка Kit | кроветворные стволовые клетки | стромальные клетки в костном мозге и многие другие клетки | семейство рецепторных тирозинкиназ |

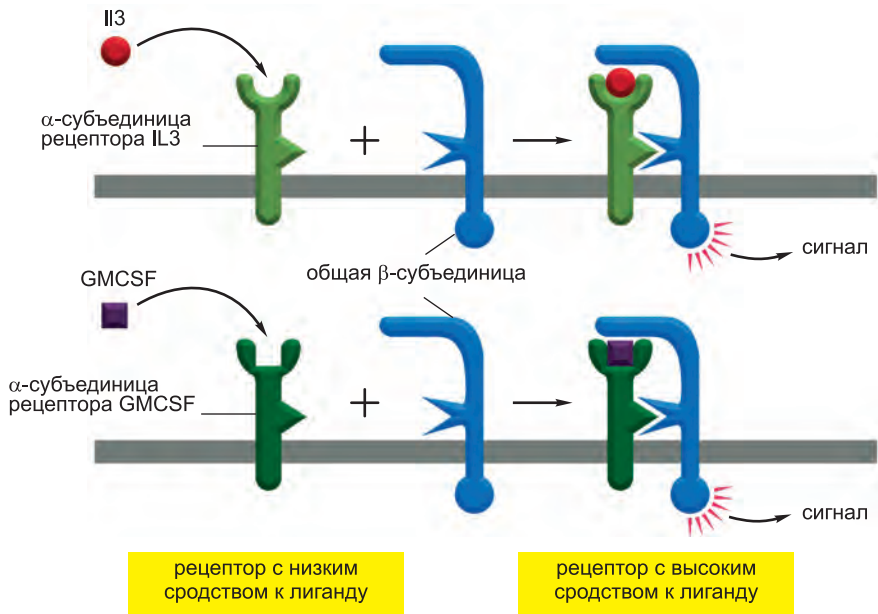
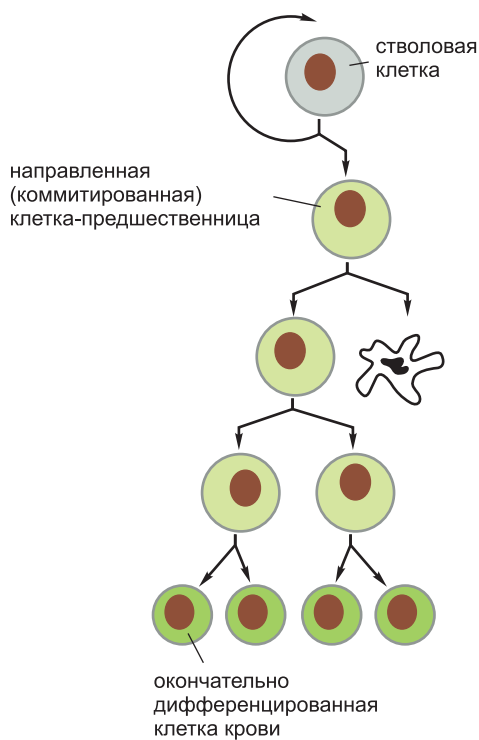


Рис. 23.45. Распределение субъединиц среди рецепторов CSF. Рецепторы IL3 и GMCSF человека имеют разные α -субъединицы и общую β -субъединицу. Их лиганды, как полагают, связываются со свободной α -субъединицей с низкой аффинностью, а это вызывает сборку гетеродимера, который уже обладает высоким средством к целевому лиганду.

фагоцитоза и направленного уничтожения клеток) окончательно дифференцированных клеток. Эти белки, произведенные искусственно при помощи клонирования соответствующих генов, оказываются сильными стимуляторами кроветворения у подопытных животных. В настоящее время их широко используют при лечении людей для стимуляции, регенерации кроветворной ткани и повышения сопротивляемости инфекции — впечатляющая демонстрация возможности разработки более эффективных методов лечения на основе фундаментального исследования в рамках клеточной биологии и экспериментов над животными.

23.5.11. Поведение кроветворной клетки зависит от случайных событий

CSF мы определяем как факторы, способствующие образованию колоний дифференцированных клеток крови. Но какое именно действие CSF оказывает на отдельно взятую кроветворную клетку? Этот фактор может управлять скоростью деления клетки или регулировать число циклов деления, которые клетка-предшественница проходит перед окончательной дифференцировкой; он также может действовать на поздних стадиях, стимулируя дифференцировку; он может работать в самом начале пути и влиять на выбор направления дифференцировки; наконец, он может попросту повышать вероятность выживания клеток (рис. 23.46). Отслеживая в культуре судьбу отдельно взятых кроветворных клеток, удалось показать, что один CSF, скажем GM-CSF, может проявлять все вышеперечисленные свойства, хотя не до конца ясно, которые из них наиболее важны *in vivo*.



УПРАВЛЯЕМЫЙ ПАРАМЕТР

1. Частота деления стволовых клеток.
2. Вероятность гибели стволовых клеток.
3. Вероятность того, что дочерняя стволовая клетка станет направленной клеткой-предшественницей данного типа.
4. Длительность цикла деления направленной клетки-предшественницы.
5. Вероятность гибели клетки-предшественницы.
6. Число делений направленной клетки-предшественницы перед окончательной дифференцировкой.
7. Продолжительность жизни дифференцированных клеток.

Рис. 23.46. Некоторые параметры, позволяющие регулировать производство клеток крови определенного типа. Исследования культур клеток свидетельствуют о том, что колониестимулирующие факторы (CSF) могут определять все упомянутые на рисунке аспекты дифференцировки.

Более того, исследования *in vitro* показывают, что в механизм определения судьбы кроветворной клетки заложен большой элемент случайности — предположительно, это отражение «шума» в системе генетического управления, описываемого нами в главе 7. Похоже, что некоторые из CSF действуют, регулируя вероятность осуществления клеткой того или иного процесса, а не диктуя напрямую, что клетка должна сделать. В культурах кроветворных клеток, даже если отобраны клетки максимально гомогенны, обнаруживается удивительная изменчивость в размерах, а зачастую и в характерах колоний, которые из них развиваются. Даже если две сестринские клетки взять незамедлительно после деления материнской клетки и культивировать обособленно в идентичных условиях, нередко они дают начало колониям, содержащим клетки крови разного типа или клетки одного типа, но в разных количествах. Таким образом, и в процесс программирования деления клеток, и в процесс направления их на определенный путь дифференцировки, по всей видимости, вовлечены случайные события на уровне индивидуальной клетки, при том что поведение многоклеточной системы в целом регулируется вполне надежно. Последовательность планомерного ограничения возможностей дальнейшей дифференцировки клетки, представленная на рис. 23.42, может создать представление об этом процессе как о программе, выполняемой с компьютерной точностью. В то же время поведение отдельных клеток может показаться совершенно хаотичным и непредсказуемым, а их путь к конечной стадии дифференцировки — запутанным и полным ошибок.

23.5.12. Регуляция выживания клеток столь же важна, как и регуляция их пролиферации

Судьба кроветворных клеток в отсутствие CSF — смерть от апоптоза (мы разбирали это в главе 18). Таким образом, CSF, в принципе, могут регулировать численность клеток крови разного типа просто через избирательное управление их жизнеспособностью. Есть данные о том, что управление выживанием клеток на самом деле играет центральную роль в регуляции численности клеток крови — точно так же, как это имеет место в случае гепатоцитов и клеток многих других типов. Интенсивность апоптотических процессов в кроветворной системе позвоночных огромна: так, в организме взрослого человека от апоптоза каждый день умирают миллиарды нейтрофилов. Фактически большинство нейтрофилов, произведенных в костном мозге, умирает в нем же, так и не приступив к выполнению своих функций. Вполне возможно, что такой на первый взгляд бессмысленный цикл производства и разрушения необходим для поддержания резерва клеток, которые могут быть в случае необходимости быстро мобилизованы на борьбу с инфекцией или же фагоцитированы и переварены в процессе нормального метаболизма, когда все тихо. Ничтожная цена за поддержание жизни всего организма!

Слишком медленная гибель клеток может быть столь же опасна для здоровья многоклеточного организма, сколь и чрезмерное их разрастание. Мутации в кроветворной системе, вызывающие чрезмерное производство клеточного ингибитора апоптоза Bcl-2, замедляют смерть клеток и способствуют развитию рака в В-лимфоцитах. Действительно, способность клетки к неограниченному самообновлению — опасное свойство для всего организма, и многие случаи лейкемии возникают из-за мутаций, наделяющих этой способностью кроветворные клетки-предшественницы, которые в норме были бы обречены на дифференцировку и смерть после ограниченного числа циклов деления.

Заключение

Все разнообразие клеток крови, включая эритроциты, лимфоциты, гранулоциты и макрофаги, происходит от общей мультипотентной стволовой клетки. У взрослого организма кроветворные стволовые клетки находятся главным образом в костном мозге и поддержание их в состоянии стволовых зависит от сигналов стромальных (разновидность соединительной ткани) клеток костного мозга, в особенности остеобластов. Как и в некоторых других системах стволовых клеток, для поддержания кроветворных стволовых клеток критически важен сигнальный путь Wnt, хотя он и не является единственным участником этого процесса. Стволовые клетки обычно делятся нечасто и генерируют как стволовые клетки (самообновление), так и различные направленные на дальнейшую дифференцировку клетки-предшественницы (транзиторные амплифицирующиеся клетки), каждая из которых способна дать начало клеткам крови одного или нескольких типов. Такие клетки-предшественницы интенсивно делятся под влиянием различных сигнальных белков (колониестимулирующих факторов, или CSF) и затем окончательно дифференцируются в зрелые клетки крови, которые обычно умирают после нескольких дней или недель службы.

*Изучению кроветворения во многом способствовали исследования *in vitro*, в ходе которых культивируемые на полутвердом матриксе стволовые клетки или дифференцирующиеся клетки-предшественницы образуют отдельные коло-*

нии. Потомки стволовых клеток делают свой выбор между альтернативными путями развития отчасти случайным образом. Центральную роль в регуляции численности зрелых дифференцированных клеток крови играет также регулируемая CSF смерть клеток в результате апоптоза.

23.6. Происхождение, изменчивость и регенерация скелетных мышц

Термин «мышца» охватывает клетки многих типов, общим для которых является то, что все они специализированы на сокращения, хотя они и могут быть непохожими друг на друга. Как отмечено в главе 16, все эукариотические клетки обладают сократительной системой, включающей в себя актин и миозин, но наиболее развита эта система именно в клетках мышц. У млекопитающих имеется четыре главные категории клеток, специализированных на сокращения: клетки скелетной (поперечно-полосатой) мышечной ткани, клетки сердечной мышцы (миокарда), клетки гладких мышц и миоэпителиальные клетки (рис. 23.47). Они отличаются друг от друга по функциям, структуре и особенностям развития. Хотя все они способны сокращаться за счет организованных систем филаментов на основе актина и миозина, используемые в них молекулы актина и миозина несколько отличаются по первичной структуре, по-разному расположены в клетке и связаны с разными наборами белков, управляющих сокращением.

Клетки скелетной мускулатуры отвечают практически за все движения, которые совершаются нами произвольно. Эти клетки могут быть очень большими (у взрослого человека до 2–3 см в длину и до 100 мкм в диаметре) и часто называются *мышечными волокнами* ввиду их сильно удлинённой формы. Каждая из них представляет собой синцитий, содержащий множество ядер внутри общей для всех цитоплазмы. Мышечные клетки других типов не столь экзотичны и, как правило, имеют только одно ядро. **Клетки сердечной мышцы** напоминают скелетные мышечные волокна тем, что их актиновые и миозиновые нити выстроены в хорошо упорядоченные группы, образующие ряд сократительных единиц — так называемых *саркомеров*, — так что клетки выглядят полосатыми, что и дало название поперечно-полосатой мускулатуре. **Клетки гладкой мускулатуры** получили свое название как раз из-за отсутствия подобной полосатости. Функции гладкой мышцы весьма широки: от проталкивания пищи по пищеварительному тракту до «вставания волос дыбом» в ответ на холод или страх. **Миоэпителиальные клетки** также не выглядят полосатыми, но, в отличие от всех остальных мышечных клеток, они расположены в эпителиальных тканях и происходят из эктодермы. Они образуют расширяющую мышцу радужной оболочки глаза и помогают секретировать слюну, пот и молоко из соответствующих желез, что мы уже обсуждали ранее (см. рис. 23.11). Мышечные клетки всех четырех типов можно подразделять дальше, на небольшие группы клеток, каждая из которых обладает характерными особенностями.

Механизмы сокращения мышц были описаны ранее, в 16-й главе. Здесь же мы рассмотрим механизмы образования и поддержания работоспособности мышечной ткани. Мы сосредоточим внимание на волокне скелетной мышцы, которое имеет весьма любопытный способ развития, поразительную способность изменять свои свойства и необычную стратегию восстановления.

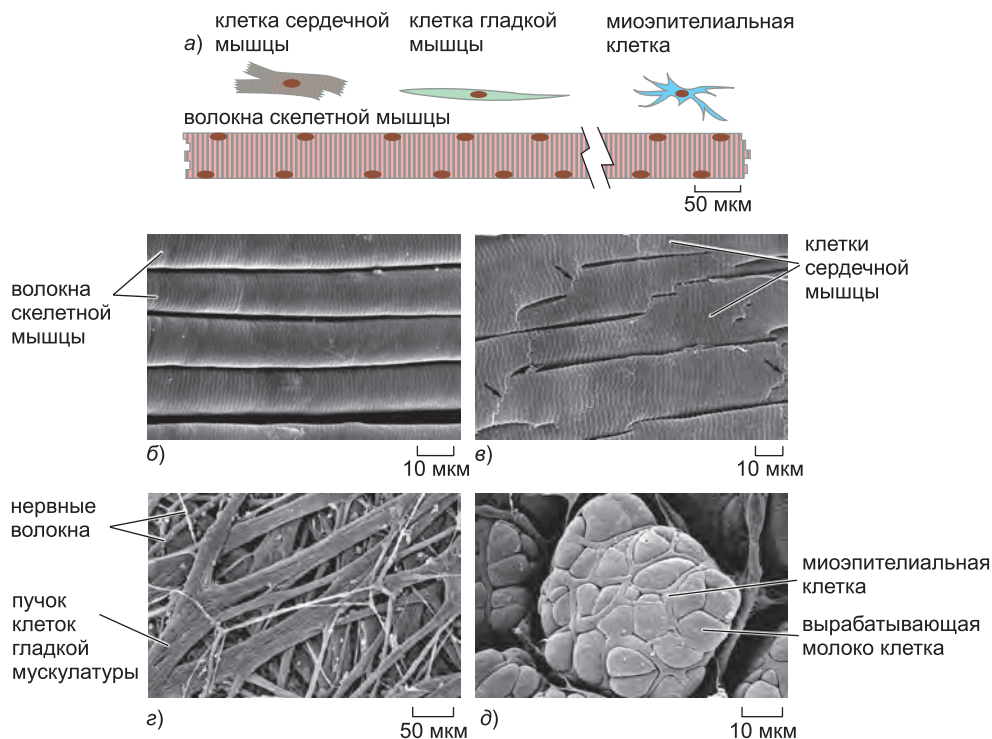


Рис. 23.47. Характерные для млекопитающих мышечные клетки четырех классов. *а)* Схематические рисунки (в масштабе). *б–д)* На фотографиях, полученных сканирующей электронной микроскопией, показаны: *б)* скелетная мышца шеи хомяка, *в)* сердечная мышца крысы, *г)* гладкую мышцу из мочевого пузыря морской свинки и *д)* миоэпителиальные клетки в секреторной альвеоле молочной железы кормящей крысы. *Стрелки* на снимке *в* указывают на вставочные диски — стыки между клетками сердечной мышцы; клетки скелетных мышц в длинных мускулах аналогичным образом соединяются встык. Обратите внимание, что гладкая мышца показана при меньшем увеличении, чем остальные. (Снимок *б* любезно предоставлен Хунцо Десаки; фото *в* взято из Т. Fujiwara, в статье «Сердечная мышца» справочника Handbook of Microscopic Anatomy [E. D. Canal, ed.]. Berlin: Springer-Verlag, 1986; изображение *г* любезно передано Сатоси Накаиро; фотоснимок *д* заимствован из Т. Nagato et al., Cell Tiss. Res. 209:1–10, 1980. С любезного разрешения издательства Springer-Verlag.)

23.6.1. Волокна скелетных мышц образуются слиянием миобластов

В главе 22 описано, как некоторые клетки, происходящие из сегментов зародыша позвоночного на очень ранней стадии его развития, становились **миобластами** — предшественниками скелетных мышечных волокон. Превращение клетки-предшественницы в миобласт зависит от регуляторных белков по крайней мере двух семейств: пары содержащих гомеодомен белков Pax3 и Pax7 и белков семейства MyoD, относящихся к основным белкам типа спираль–петля–спираль (мы обсуждали это в главе 7). Они работают совместно, позволяя миобласту «запоминать» свое состояние, и в конечном счете регулируют экспрессию других генов, которые придают зрелой мышечной клетке ее специализированный характер (см. рис. 7.75). По окончании периода разрастания миобласты коренным образом изменяются: они прекращают делиться, запускают экспрессию целой группы специфических

для мышц генов, требуемых для дифференцировки, и сливаются друг с другом, образуя многоядерные волокна скелетных мышц (рис. 23.48). В их слиянии участвуют специфические молекулы межклеточной адгезии, которые опосредуют взаимодействие между новодифференцировавшимися миобластами и мышечными волокнами. После окончания дифференцировки клетки теряют способность делиться и реплицировать свою ДНК.

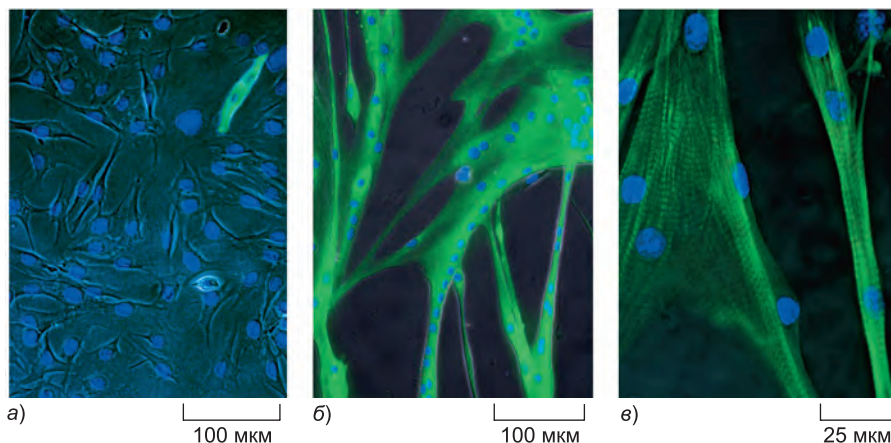


Рис. 23.48. Слияние миобластов в культуре. Культура окрашена (зеленым) флюоресцентным антителом к миозину скелетных мышц, позволяя идентифицировать дифференцированные мышечные клетки, и специфичным к ДНК красителем (синим), отмечающим ядра клеток. *а)* Немного спустя после переноса на культуральную среду, которая способствует дифференцировке, только два из множества находящихся в поле зрения миобластов включили производство миозина и слились, образовав мышечную клетку с двумя ядрами (в верхнем правом углу). *б)* Несколько погодя почти все клетки дифференцировались и слились. *в)* При большом увеличении видны характерные полоски (тонкие поперечные полосы) в двух многоядерных мышечных клетках. (Фотографии любезно предоставлены Jacqueline Gross и Terence Patridge.)

Миобласты, в течение двух лет пролифериовавшие в культуре, сохраняют способность дифференцироваться и могут сливаться, образуя мышечные клетки в ответ на соответствующие изменения в условиях содержания культуры. Подходящие сигнальные белки типа фактора роста фибробластов или фактора роста гепатоцитов (FGF или HGF) могут поддерживать культуры миобластов в недифференцированном состоянии, способном к пролиферации: если эти растворимые факторы удалить, то вскоре клетки прекращают делиться, дифференцируются и сливаются. Однако система управления устроена сложнее, и для дифференцировки миобластов важную роль играет также их прикрепление к внеклеточному матриксу. Более того, процесс дифференцировки кооперативен: дифференцирующиеся миобласты выделяют факторы, которые заставляют другие миобласты делать тоже самое.

23.6.2. Мышечные клетки способны изменять свои свойства посредством экспрессии генов, кодирующих изоформы одного и того же белка

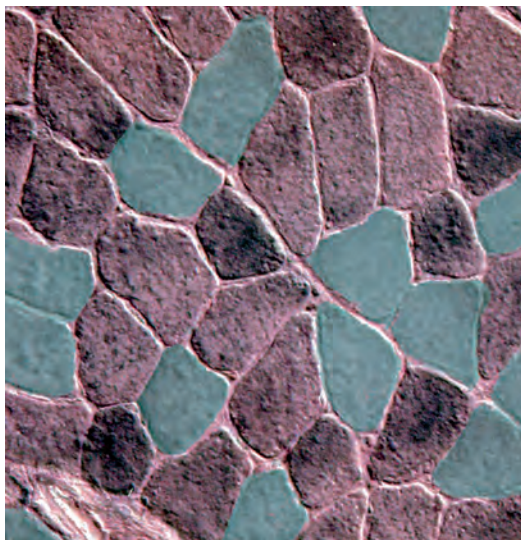
После формирования скелетное мышечное волокно растет, созревает и меняет свои свойства. Гены многих специфичных для клетки скелетной мышцы белков представле-

ны в геноме множеством отличающихся друг от друга вариантов, а соответствующие мРНК могут быть альтернативно сплайсированы. В результате мышечные волокна производят множество разнообразных форм (изоформ) белков сократительного аппарата. По мере своего созревания мышечное волокно синтезирует разные изоформы белков, удовлетворяющие изменяющимся потребностям к скорости сокращений, силе и выносливости мышц у плода, новорожденного и взрослого организма. В пределах одной развитой мышцы можно наблюдать скелетные мышечные волокна сразу нескольких типов, и каждое отличается своим набором изоформ белков и характерными функциональными свойствами (рис. 23.49). Характеристики волокон разного типа отчасти определяются еще до рождения генетической программой развития, а отчасти — после рождения — работой и тренировками. Медленные (или красные) мышечные волокна (для медленного управляемого сокращения) и быстрые (иначе называемые белыми) мышечные волокна (для быстрых сокращений) контролируются двигательными нейронами разных классов, которые могут регулировать экспрессию генов в мышечном волокне и его размер за счет действия разных электрических сигналов.

23.6.3. Волокна скелетных мышц выделяют миостатин, с тем чтобы ограничить свой рост

Мышца может расти тремя способами: ее волокна могут увеличивать свою численность, вытягиваться в длину или утолщаться. Поскольку клетки скелетной мышцы неспособны делиться, новые волокна могут возникать только путем слияния миобластов, и свойственное взрослому организму число многоядерных клеток в скелетных мышцах фактически достигается на ранних стадиях развития, у человека — еще до рождения. Будучи однажды сформированным, скелетное мышечное волокно обычно сохраняется до конца жизни животного. Однако отдельные ядра мышечных клеток могут добавляться или теряться. Дальнейшее значительное уве-

Рис. 23.49. Быстрые и медленные мышечные волокна. Два последовательных поперечных среза одной и той же части мышцы задней лапы взрослой мыши были окрашены разными антителами, каждое из которых специфично к своей изоформе белка тяжелой цепи миозина, и изображения этих двух срезов наложили (с применением искусственной расцветки), чтобы выявить картину взаимного расположения мышечных волокон разных типов. Волокна, окрашенные антителами к «быстрому» миозину (*серый цвет*) специализированы на осуществление быстрых сокращений; волокна, окрашенные антителами к «медленному» миозину (*розовый цвет*) специализированы на выполнение медленных, продолжительных сокращений. Волокна быстрых сокращений известны как белые мышечные волокна, потому что они содержат относительно мало ярко окрашенного связывающего кислород белка миоглобина. Медленные мышечные волокна называют красными мышечными волокнами, потому что они содержат намного больше миоглобина. (Снимок любезно предоставлен Simon Hughes.)



20 мкм

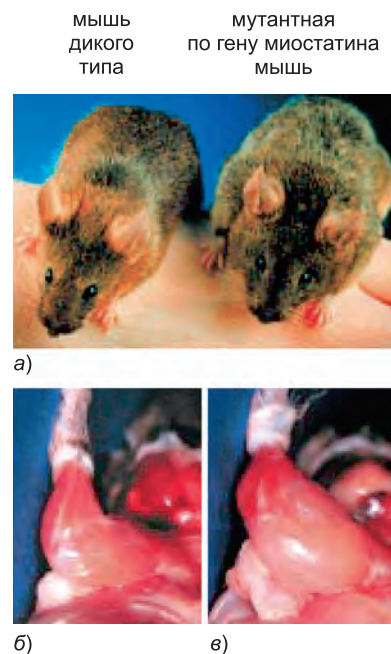


Рис. 23.50. Регуляция размера мышцы миостатином. а) Нормальная мышь в сравнении с мутантной мышью, у которой недостает миостатина. б) Задняя лапа нормальной и в) лишенной миостатина мыши; кожа удалена, чтобы показать ощутимое разрастание мускулатуры у мутанта. (Изображения заимствованы из S. J. Lee and A. C. McPherron, *Curr. Opin. Genet. Devel.* 9: 604–607, 1999. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

личение мышечной массы в процессе взросления организма достигается за счет увеличения размеров отдельных клеток. Рост мышцы в длину зависит от включения в существующие многоядерные волокна новых миобластов, в силу чего в каждой такой клетке возрастает число ядер. Утолщение мышц, подобное тому, которое происходит в мускулах тяжелоатлетов, осуществляется как за счет привлечения новых миобластов, так и за счет увеличения размеров и числа сократительных миофибрилл в каждой отдельной клетке.

Какие же механизмы управляют общим числом мышечных клеток и размером отдельно взятой мышечной клетки? Важным звеном в механизме

регуляции является белок, называемый *миостатином*. Мыши с мутацией в гене миостатина имеют огромные мускулы: в два-три раза больше нормальных (рис. 23.50). Пропорционально возрастает и число мышечных клеток, и их размер. Мутации в том же самом гене присутствуют у представителей так называемых «мясных» пород рогатого скота (см. рис. 17.69): при отборе экземпляров с наиболее развитой мускулатурой скотоводы, сами того не зная, выбирали особей с дефицитом миостатина. Миостатин принадлежит к надсемейству сигнальных белков TGF β . Обычно он синтезируется и выделяется клетками скелетных мышц и эффективно воздействует на миобласты, тормозя их пролиферацию и дифференцировку. Его функция, очевидно, состоит в обеспечении отрицательной обратной связи, призванной ограничивать наращивание мышечной массы во взрослой жизни и во время развития. Рост некоторых других органов управляется аналогичным образом: по мере увеличения в размерах орган начинает активнее синтезировать фактор, тормозящий рост. Однако нам предстоит ответить еще на один вопрос: откуда же во взрослом организме берутся новые миобласты?

23.6.4. Некоторые миобласты сохраняются во взрослом организме как покоящиеся стволовые клетки

Несмотря на то что в организме взрослого человека новые скелетно-мышечные волокна обычно не появляются, они тем не менее сохраняют такую способность, и в случае необходимости имеющиеся мышечные волокна могут возобновить свой рост. Клетки, способные выступить в данном случае в роли миобластов, существуют в виде маленьких, уплощенных и неактивных клеток, находящихся в тесном контакте со зрелой мышечной клеткой и собственной базальной пластинкой (рис. 23.51). Если мышца повреждена или стимулируется к росту, эти *сателлитные*

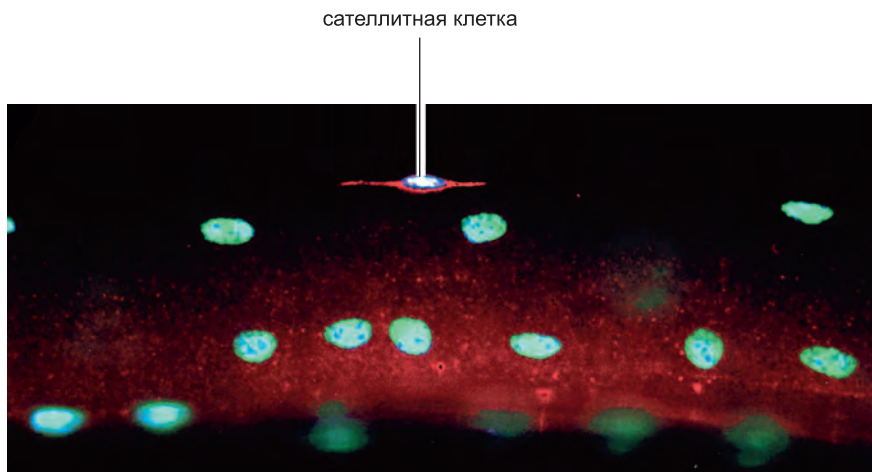


Рис. 23.51. Сателлитная клетка (миосателлитоцит) на волокне скелетной мышцы. Образец окрашен антителом (красного цвета) к мышечному кадгерину (M-кадгерину), который присутствует и на сателлитной клетке, и на мышечном волокне и сконцентрирован на участках контактов их мембран. Ядра мышечного волокна окрашены зеленым цветом, а ядро сателлитной клетки — синим цветом. (Снимок любезно предоставлен Terence Patridge.)

клетки возобновляют пролиферацию, и их потомки могут сливаться, восстанавливая повреждение или увеличивая размер мышцы. Подобно миобластам, они регулируются миостатином. Таким образом, сателлитные клетки (или некоторая их популяция) представляют собой стволовые клетки взрослой скелетной мышцы, обычно хранящиеся в неподвижном состоянии, но активируемые по мере необходимости в качестве самообновляемого источника окончательно дифференцированных клеток. Исследования этих клеток легли в основу представленной нами ранее на рис. 23.10 гипотезы о «вечно стволовой» ДНК (в контексте асимметричного деления стволовых клеток).

Однако процесс восстановления мышцы посредством сателлитных клеток имеет несколько очевидных ограничений. Например, при определенной форме *мышечной дистрофии* генетический дефект в белке клеточного скелета дистрофине приводит к повреждению дифференцированных клеток скелетных мышц. В результате сателлитные клетки пролиферируют, чтобы восстановить поврежденные мышечные волокна. Однако такая регенеративная реакция не успевает залечить все повреждения, и в конечном счете утраченные клетки мышц заменяются соединительной тканью, препятствующей дальнейшей регенерации. Подобная утрата механизмов восстановления, видимо, является причиной ослабления мышц в пожилом возрасте.

При мышечной дистрофии, когда сателлитные клетки вынуждены постоянно пролиферировать, их способность к делению может быть утрачена в результате планомерного сокращения их теломер в ходе каждого цикла деления (что описано в главе 17). Как мы отмечали ранее на примере кроветворных стволовых клеток, стволовые клетки других тканей, по всей видимости, ограничены таким же способом: обычно они делятся с низкой скоростью, и мутации или исключительные обстоятельства, которые заставляют их делиться быстрее, приводят к их преждевременному старению.

Закключение

Скелетные мышечные волокна — одна из четырех основных категорий клеток позвоночных, специализирующихся на сокращении, и они отвечают за все произвольные движения. Каждое скелетное мышечное волокно является синцитием, образуемым путем слияния множества миобластов. Миобласты интенсивно пролиферируют, но после слияния теряют способность делиться. Слияние миобластов обычно сопряжено с началом дифференцировки клетки мышцы, когда в согласованном порядке включаются и выключаются многие гены, кодирующие мышцеспецифичные белки. Некоторые миобласты покоятся во взрослой мышце в виде сателлитных клеток; когда мускул поврежден, эти клетки активизируются и начинают разрастаться и сливаться, заменяя собой утерянные мышечные клетки. Таким образом, это стволовые клетки скелетной мышцы. Мышечная масса регулируется гомеостатически при помощи механизма отрицательной обратной связи: существующая мышца выделяет миостатин, который тормозит ее дальнейший рост.

23.7. Фибробласты и их превращения: семейство клеток соединительной ткани

Многие дифференцированные клетки взрослого организма можно сгруппировать в семейства на основании общего происхождения и схожих свойств. Важным примером является семейство **клеток соединительной ткани**, члены которого не только связаны родством, но также удивительным образом способны к взаимным превращениям. В это семейство входят *фибробласты*, *хрящевые клетки* и *костные клетки*, все они специализированы на выделение коллагенового внеклеточного матрикса и вместе отвечают за формирование «каркаса» организма. Наряду с ними семейство клеток соединительной ткани включает в себя также *жировые клетки* и *клетки гладкой мускулатуры*. На **рис. 23.52** представлены клетки всех этих

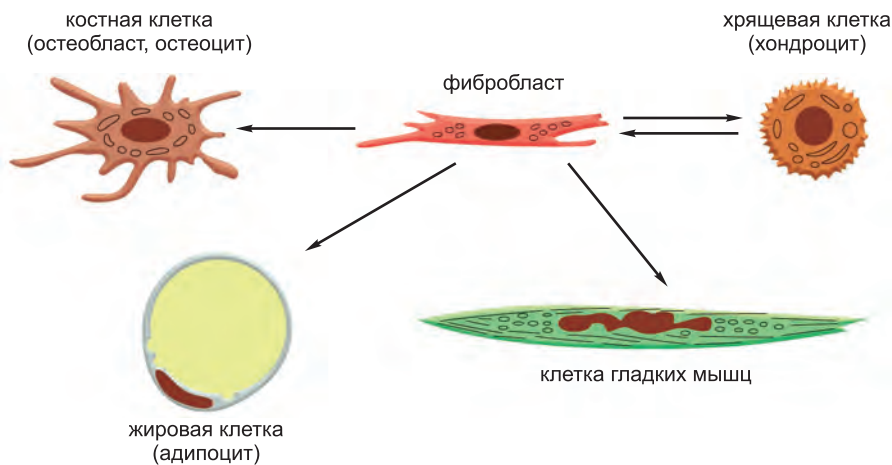


Рис. 23.52. Семейство клеток соединительной ткани. Стрелками показаны взаимные превращения, происходящие между представителями этого семейства. Для простоты фибробласт представлен клеткой одного типа, хотя в точности неизвестно, сколько типов фибробластов фактически существует и в какой степени ограничен потенциал их дифференцировки.

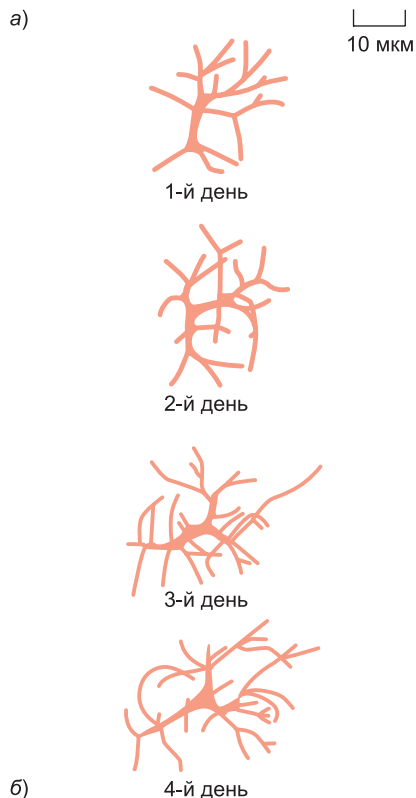
типов и показаны возможности их взаимного превращения. Клетки соединительной ткани являются опорой почти для всех тканей и органов, а пластичность их дифференцировки играет важную роль в восстановлении тканей после повреждения.

23.7.1. Фибробласты изменяют свой характер в ответ на химические сигналы

По всей видимости, фибробласты — наименее специализированные клетки соединительной ткани. Они рассредоточены в пределах соединительной ткани по всему организму и выделяют нежесткий внеклеточный матрикс, который богат коллагеном I или III типа или обоими, как показано в главе 19. Когда ткань повреждена, близлежащие фибробласты разрастаются, мигрируют в очаг поражения и производят большие количества коллагенового матрикса, который помогает изолировать и восстанавливать поврежденную ткань. Их способность к выживанию в неблагоприятных условиях типа раны позволяет легко выращивать их в культуре, что сделало фибробласты излюбленным предметом исследований клеточных и молекулярных биологов (рис. 23.53).

Как следует из рис. 23.52, фибробласты ко всему прочему являются наиболее универсальными из клеток соединительной ткани и обладают удивительной способностью превращаться в другие клетки этого семейства. Однако механизм взаимных превращений изучен далеко не полностью. Фибробласты в разных частях организма сильно отличаются друг от друга, и даже в какой-то одной его области между ними могут быть различия. Например, «зрелые» фибробласты, обладающие меньшей способностью к преобразованиям, могут существовать бок о бок с «незрелыми» фибробластами (часто называемыми мезенхимальными клетками), которые могут развиваться в зрелые клетки самых разных типов.

Рис. 23.53. Фибробласт. а) Фазово-контрастная микроскопия фибробластов в культуре. б) Эти рисунки живой фибробластоподобной клетки в прозрачном хвосте головастика показывают изменения ее формы и положения на протяжении нескольких дней. Обратите внимание, что, во время как в культуре фибробласты уплощаются, в тканях они могут иметь более сложную морфологию с разнообразными отростками. См. также рис. 19.54. (Снимок а заимствован из E. Pokorna et al., *Cell Motil. Cytoskeleton* 28:25–33, 1994; изображения б перерисованы из E. Clark, *Am. J. Anat.* 13:351–379, 1912. Все с великодушного разрешения издательства Wiley-Liss.)



Стромальные клетки костного мозга, упоминавшиеся ранее, служат хорошим примером разнообразия соединительной ткани. Эти клетки, которые можно рассматривать как своего рода фибробласты, выделяют из костного мозга в чистом виде и размножают в культуре. Таким способом из одиночных стромальных клеток могут быть получены большие колонии их потомков. В зависимости от того, какие сигнальные белки добавляются в культуральную среду, клетки такой колонии могут или продолжать разрастаться и производить все больше клеток того же самого типа, или дифференцироваться в жировые, хрящевые или костные клетки. Ввиду самообновляющегося и мультипотентного характера этих клеток их называют *мезенхимальными стволовыми клетками*.

В то же время фибробласты дермального слоя кожи в этом отношении иные. Будучи помещенными в те же условия в культуре, они не обладают такой пластичностью при дифференцировке. И все же они могут изменять свой характер. К примеру, в заживающей ране они начинают активно экспрессировать актины, приобретая некоторые из сократительных свойств клеток гладкой мускулатуры, и тем самым способствуют затягиванию краев раны; такие клетки называют *миофибробластами*. Еще более поразительным является тот факт, что если препарат костного матрикса, полученный размалыванием кости в тонкий порошок и растворением твердой минеральной составляющей, ввести в дермальный слой кожи, то некоторые из входящих в препарат клеток (вероятно, фибробласты) преобразуются в хрящевые клетки, а позднее и другие клетки преобразуются в костные клетки, в результате чего образуется небольшая область костной ткани. Эти эксперименты говорят о том, что компоненты внеклеточного матрикса могут заметно влиять на дифференцировку клеток соединительной ткани.

Мы увидим, что подобные преобразования клеток происходят и во время естественного срастания переломов костей. Фактически костный матрикс содержит значительные количества нескольких сигнальных белков, которые могут влиять на поведение клеток соединительной ткани. В их число входят члены надсемейства TGF β , включая белки BMP и сам белок TGF β . Эти факторы регулируют рост, дифференцировку клеток соединительной ткани, а также осуществляемый ими синтез внеклеточного матрикса, оказывая разнообразные воздействия в зависимости от типа целевой клетки, а также комбинации других факторов и компонентов матрикса. При введении в живой организм они могут вызвать формирование хрящевого, костного или фиброзного матрикса, в зависимости от участка и обстоятельств введения. Белок TGF β особенно важен при заживлении ран, где он стимулирует преобразование фибробластов в миофибробласты и способствует формированию богатой коллагеном рубцовой ткани, придающей затянутой ране необходимую прочность.

23.7.2. Внеклеточный матрикс может влиять на дифференцировку клеток соединительной ткани, изменяя форму клеток и способность к прикреплению

Внеклеточный матрикс может влиять на дифференцированное состояние клеток соединительной ткани как через физические, так и через химические воздействия. Это показано в ходе исследований на культивируемых хрящевых клетках, или **хондроцитах**. При создании в культуре соответствующих условий эти клетки разрастаются и поддерживают свой дифференцированный характер, на протяжении многих поколений продолжая в больших количествах синтезировать специфический

хрящевый матрикс, которым они себя окружают. Если же клетки культивируются при относительно низкой плотности и остаются в виде одинарного слоя на дне чашки для культивирования, то происходит их преобразование. Они утрачивают характерную округлую форму, распластаются по субстрату и прекращают выделять хрящевый матрикс — они перестают производить коллаген II типа, который характерен для хряща, и начинают вырабатывать коллаген I типа, характерный для фибробластов. Через месяц почти все живущие в культуре хрящевые клетки переключают экспрессию генов коллагена и превращаются в фибробласты. Очевидно, что биохимические изменения происходят очень быстро, так как лишь ничтожный процент таких клеток способен производить коллаген обоих типов.

Скорее всего, биохимическое изменение вызывается, по крайней мере отчасти, изменением формы клетки и способа ее прикрепления к внеклеточному матриксу. Например, клетки хряща, которые совершили переход к фибробластоподобному характеру, могут быть осторожно извлечены из чашки для культивирования и перенесены на чашку с агарозой. Образуя вокруг клеток гель, агароза удерживает их в подвешенном состоянии, без какого-либо контакта с субстратом, побуждая их тем самым принять округлую форму. В этих обстоятельствах клетки быстро приобретают характер хондроцитов и снова начинают вырабатывать коллаген II типа. Влияние формы клетки и характера ее прикрепления на экспрессию генов может быть опосредовано внутриклеточными сигналами, производимыми в местах контактов интегринами, выступающими в роли рецепторов матрикса, о чем мы говорили в главе 19.

Для клеток большинства типов, в особенности для клеток соединительной ткани, возможности прикрепления зависят от окружающего матрикса, который обычно вырабатывается самими же клетками. Таким образом, клетка сама может создать окружающую среду, которая в свою очередь воздействует на эту же клетку, поддерживая ее дифференцированное состояние. Более того, внеклеточный матрикс, выделяемый клеткой, формирует окружающую среду не только для самой этой клетки, но и для ее соседок и таким образом стремится заставить их дифференцироваться аналогичным образом. Например, можно наблюдать, как группа хондроцитов, образующих узелок хряща в развивающемся организме или в чашке для культивирования, увеличивается за счет превращения соседних фибробластов в хондроциты.

23.7.3. Остеобласты выделяют костный матрикс

Несмотря на то что хрящевые и костные ткани весьма различны, они близки по происхождению и вместе формируют скелет организма.

Хрящевая ткань в структурном отношении довольно проста: состоит из клеток одного типа, хондроцитов, сидящих в более или менее однородном сильно гидратированном матриксе, состоящем из протеогликанов и коллагена II типа, замечательные свойства которого мы уже обсуждали в главе 19. Хрящевый матрикс пластичен, и хрящевая ткань может расти, расширяясь по мере того, как хондроциты делятся и выделяют все большие количества матрикса (**рис. 23.54**). **Кость**, в отличие от хрящевой ткани, является плотной и жесткой; она растет за счет напластовывания добавочного матрикса на свободные поверхности. Подобно железобетону, костный матрикс представляет собой преимущественно смесь жестких волокон (состоящих из коллагена I типа), которые сопротивляются силам растяжения, и твердых частиц (фосфат кальция в виде кристаллов *гидроксиапатита*), которые противостоят сжатию. Коллагеновые волокна во взрослой кости располагаются регулярными слоями, при этом волокна каждого слоя лежат параллельно

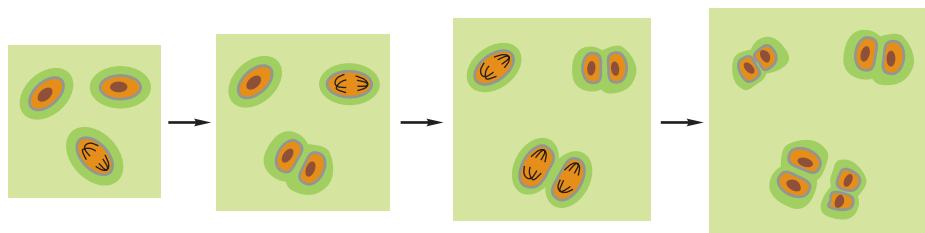


Рис. 23.54. Рост хряща. Ткань расширяется по мере того, как хондроциты делятся и вырабатывают больше матрикса. Свежесинтезированный матрикс, которым каждая клетка окружает себя, окрашен *темно-зеленым* цветом. Хрящ может расти также и за счет привлечения фибробластов из окружающей ткани и преобразования их в хондроциты.

друг другу, но под прямым углом к волокнам соседних слоев. Они занимают объем, сопоставимый с занимаемым фосфатом кальция. Костный матрикс выделяется **остеобластами**, которые расположены на поверхности существующего матрикса и формируют новые слои кости. Некоторые остеобласты остаются свободными на поверхности, в то время как другие постепенно погружаются в свой собственный секрет. Этот свежееобразованный материал (состоящий в основном из коллагена I типа) называют *остеоидом*. Он быстро превращается в твердый костный матрикс за счет отложения в нем кристаллов фосфата кальция. Заключенная в твердый матрикс, исходная, формирующая кость клетка, теперь уже называемая **остеоцитом**, не имеет никакой возможности делиться, хотя и продолжает секретировать матрикс в малых количествах. Как и хондроцит, остеоцит занимает маленькую полость, или *лауну*, в матриксе, но, в отличие от хондроцита, он не изолирован от своих собратьев. От каждой лакуны отходят крошечные каналы, или *канальцы*, по которым расходятся отростки от занимающего эту лауну остеоцита, позволяющие ему формировать щелевидные соединения с соседними остеоцитами (**рис. 23.55**). Хотя сети остеоцитов сами по себе не выделяют матрикс и не разрушают его, они, по всей вероятности, управляют активностью других клеток, которые этим и занимаются. Помимо таких канальцев, костную ткань пронизывают кровеносные сосуды и нервы, поддерживающие жизнедеятельность костных клеток и реагирующие на повреждения кости.

Зрелая кость впечатляет сложной и вместе с тем искусной архитектурой, в которой плотные пластинки *компактной костной* ткани окружают области, заполненные легкими конструкциями из *губчатой кости* с мягким костным мозгом внутри (**рис. 23.56**). Создание, поддержание и починка этих структур зависят не только от клеток семейства соединительной ткани, которые синтезируют матрикс, но также и от клеток особого класса, называемых *остеокластами*, которые осуществляют ее деградацию.

23.7.4. Кости большинства типов построены на основе хрящевых моделей

Большинство костей, и в особенности длинные кости конечностей и туловища, возникают из, как это ни странно звучит, миниатюрных «масштабных моделей», образующихся из хряща еще в зародыше. Каждая такая модель в масштабе растет, и по мере образования нового хряща старый хрящ заменяется костью. Данный про-

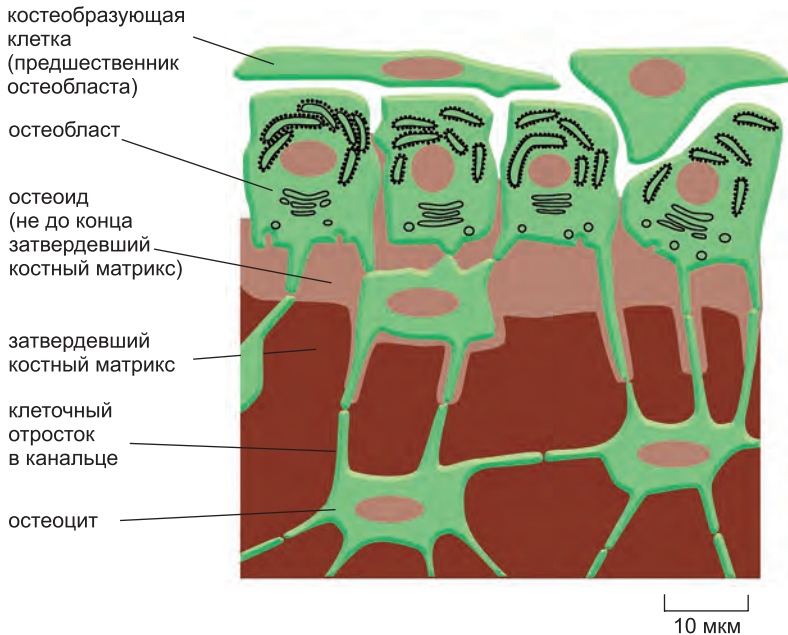


Рис. 23.55. Отложение костного матрикса остеобластами. Остеобласты, выстилающие поверхность кости, выделяют органический матрикс кости (остеоид) и превращаются в остеоциты, когда полностью погружаются. Вскоре после отложения матрикса затвердевает. Сами остеобласты, как думают, происходят от костеобразующих стволовых клеток, состоящих в близком родстве с фибробластами.

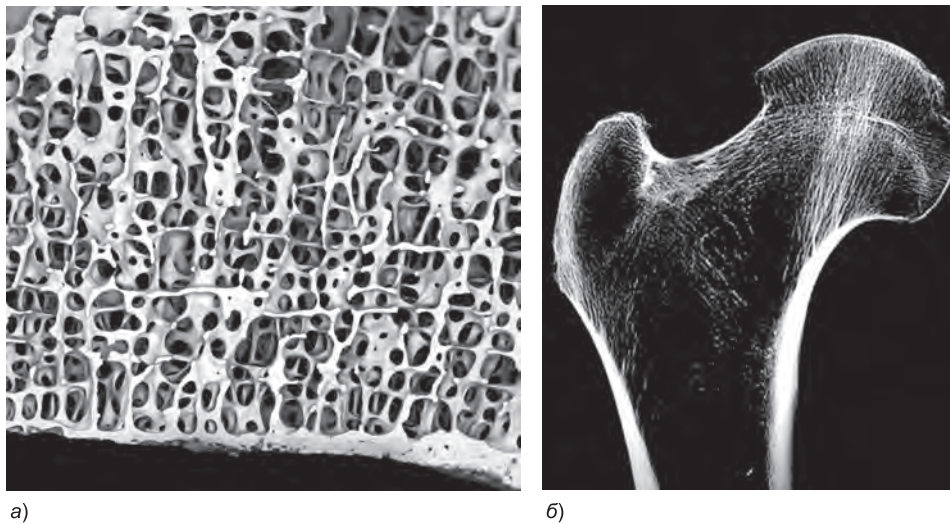


Рис. 23.56. Губчатая и компактная кости. а) Сделанная сканирующей электронной микроскопией при небольшом увеличении фотография губчатой кости в позвонке взрослого человека. Мягкая мозговая ткань растворена. б) Срез через головку бедренной кости (костный мозг и прочая мягкая ткань растворены аналогичным образом) показывает компактную кость диафиза и губчатую кость внутри головки. В силу того что костная ткань перестраивается в ответ на механическую нагрузку, трабекулы (коллагеновые тяжи, образующие остов органа) ориентируются вдоль главных осей напряжения в теле кости. (Снимок а любезно предоставлен Alan Boyde; фото б заимствовано из J. V. Kerr, Atlas of Functional Histology. Mosby, 1999.)

цесс известен под названием *внутрихрящевого* окостенения. Рост хряща, его эрозия и отложение кости столь искусно согласованы между собой, что взрослая кость, хотя она может быть полметра длиной, почти полностью сохраняет форму изначальной хрящевой модели, длина которой не превышала нескольких миллиметров.

Процесс начинается в зародыше с появления неясно очерченных «уплотнений» — групп клеток эмбриональной соединительной ткани, которые постепенно уплотняются сильнее, чем их соседи, и начинают экспрессировать характерный набор генов — включающий, в частности, ген *Sox9* и, после небольшой задержки, ген *Runx2*. Эти два гена кодируют регуляторные белки, которые определяюще важны для развития соответственно хряща и кости. Мутантные клетки с отсутствием гена *Sox9* не способны дифференцироваться в хрящевые, но могут формировать кость (и в некоторых частях тела будут образовывать кость там, где должен быть хрящ). И наоборот, животные, у которых недостает функционально активного гена *Runx2*, вовсе не образуют костей и рождаются со скелетом, состоящим исключительно из хряща.

Вскоре после начала экспрессии гена *Sox9* клетки в ядре уплотнения начинают выделять хрящевый матрикс, попутно делясь и увеличиваясь в размерах. Таким образом, они формируют расширяющийся хрящевый стержень, окруженный более плотно упакованными нехрящевыми клетками. Хрящевые клетки в средней части стержня становятся гипертрофированными (чрезвычайно увеличенными) и прекращают делиться; и в то же самое время они начинают секретировать Indian Hedgehog — сигнальную молекулу из семейства Hedgehog. Оно в свою очередь вызывает увеличенное производство некоторых белков из семейства Wnt, которые активируют сигнальный путь Wnt в клетках, окружающих хрящевый стержень. В результате эти клетки выключают экспрессию гена *Sox9*, поддерживают экспрессию гена *Runx2* и начинают дифференцироваться в остеобласты, создавая костный воротник вокруг стержня хрящевой модели. Искусственная сверхактивация сигнального пути Wnt склоняет более весомую долю клеток к созданию кости, а не хряща; искусственная блокировка сигнального пути Wnt приводит к обратному. Отсюда становится ясно, что в этой системе сигналы Wnt управляют выбором между альтернативными путями дифференцировки, при этом экспрессия гена *Sox9* смещает равновесие в сторону хряща, а экспрессия гена *Runx2* сдвигает его к кости.

Гипертрофированные клетки хряща в стержне хрящевой модели вскоре умирают, оставляя в матриксе большие полости, а сам матрикс становится минерализованным, подобно кости, за счет отложения кристаллов фосфата кальция. В эти полости вторгаются остеокласты и кровеносные сосуды — они разъедают остаточный хрящевый матрикс, создавая пространство для костного мозга, а остеобласты, идущие вслед за ними, начинают наносить губчатую кость в тех частях полости, где нити хрящевого матрикса остаются в виде основы. На концах кости хрящевая ткань заменяется костной тканью на значительно более поздней стадии развития процесса, в целом похожего на тот, который показан на [рис. 23.57](#). Непрерывное удлинение кости, до наступления половой зрелости, зависит от пластинки хряща, нарастающего между диафизом и головкой кости. Дефектный рост хряща в этой пластинке, в результате доминантной мутации в гене, который кодирует рецептор FGFR3, служит причиной наиболее распространенной формы карликовости, известной под названием *ахондроплазии* ([рис. 23.58](#)).

В конечном счете хрящевая ростовая пластинка заменяется костью и исчезает. Единственный сохраняющийся во взрослой длинной кости остаток хряща — тонкий, но важный слой, образующий гладкое, скользкое покрытие на поверхностях кости

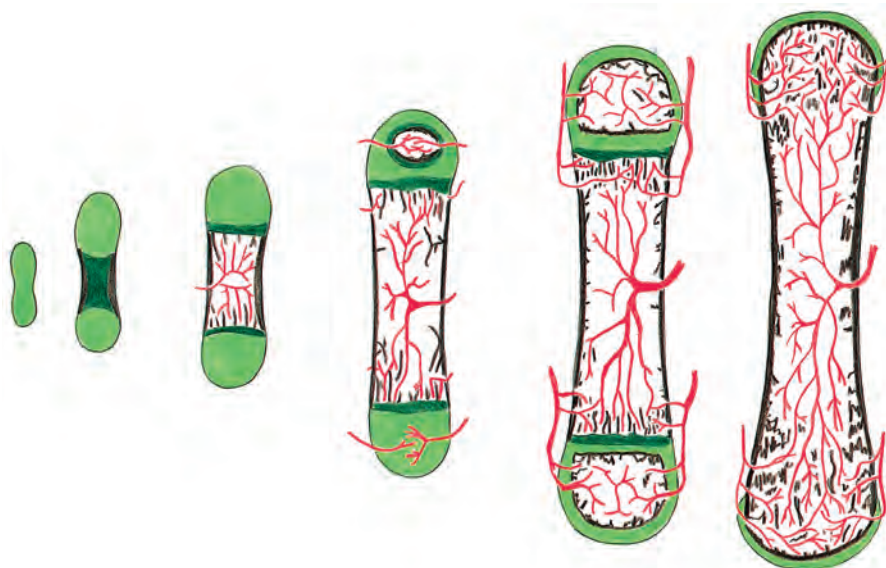


Рис. 23.57. Развитие длинной кости. Длинные кости, такие как бедренная или плечевая кости, развиваются из миниатюрной хрящевой модели. Необызвествленный (мягкий) хрящ обозначен *светло-зеленым*, обызвествленный — *темно-зеленым*, кость — *черным*, а кровеносные сосуды — *красным* цветом. Хрящ не превращается в кость, но постепенно заменяется ею при содействии остеокластов и остеобластов, которые вторгаются в хрящ наряду с сопутствующими им кровеносными сосудами. Остеокласты разъедают хрящевый и костный матрикс, в то время как остеобласты выделяют костный матрикс. Процесс окостенения начинается в зародыше и завершается лишь к концу полового созревания. Получающаяся кость состоит из толстостенного полого цилиндра компактной кости, охватывающего большую центральную полость, занятую костным мозгом. Необходимо отметить, что не все кости развиваются таким способом. К примеру, покровные кости черепа сразу формируются как костные пластинки, а не из предшествующей хрящевой модели. (Нарисовано на основе D. W. Fawcett, A Textbook of Histology, 12th ed. New York: Chapman and Hall, 1994.)

в суставах, которыми кости сочленяются между собой (см. рис. 23.57). Эрозия этого хрящевого слоя — в силу старения, механического повреждения или аутоиммунного поражения — приводит к *артриту*, одному из самых распространенных и наиболее болезненных недугов старческого возраста.

23.7.5. Кость непрерывно перестраивается находящимися в ней клетками

При всей своей жесткости кость ни в коем случае не является постоянной и неизменной тканью. Твердый внеклеточный матрикс бороздят каналы и испещряют полости, занятые живыми клетками, которые составляют около 15% веса компактной кости. Эти клетки вовлечены в непрерывающийся процесс перестройки: в то время как остеобласты наносят новый костный матрикс, остеокласты проворно разбирают и поедают старый. Этот механизм обеспечивает непрерывный оборот и замену матрикса в толще кости.

Остеокласты (рис. 23.59) — крупные многоядерные клетки, которые происходят, подобно макрофагам, из кроветворных стволовых клеток костного мозга. Клетки-предшественницы высвобождаются в виде моноцитов в кровотоки и соби-



Рис. 23.58. Ахондроплазия. Карликовость этого типа встречается у одного из 10 000–100 000 новорожденных; в более 99 % случаев она является результатом мутации в идентичном для всех участке генома, соответствующем аминокислоте 380 белка FGFR3 — рецептора FGF (глицин в трансмембранном домене). Эта мутация доминантна, и почти все случаи происходят из-за новой независимо возникающей мутации, что говорит о необычайно высокой частоте возникновения мутаций на этом конкретном участке генома. Дефект в сигнале FGF обуславливает карликовость, препятствуя росту хряща в развивающихся длинных костях. (Репродукция написанного Диего Веласкесом портрета Себастьяна де Морра. © Museo del Prado, Madrid.)

раются на участках рассасывания кости, где они сливаются в многоядерные остеокласты, которые цепляются за поверхности костного матрикса и поедают его. Остеокласты способны глубоко вгрызаться в вещество компактной кости, образуя ходы, которые затем заселяются другими клетками. Крове-

носный капилляр растет вглубь по центру такого туннеля, а стенки этого туннеля выстилаются слоем остеобластов (рис. 23.60). Чтобы воспроизвести подобную фанере структуру компактной кости, эти остеобласты укладывают концентрические слои нового матрикса, которые постепенно заполняют полость и оставляют только узкий канал, окружающий новый кровеносный сосуд. Многие остеобласты оказываются запертыми в ловушке костного матрикса и продолжают жить в его толще в виде концентрических колец остеоцитов. В одно и то же время одни туннели заполняются костью, другие пробуриваются остеокластами, съедающими более старые концентрические системы. Последствия такой нескончаемой перестройки отображаются красивым узором слоеных образований матрикса, наблюдаемых в компактной кости (рис. 23.61).

23.7.6. Остеокласты управляются сигналами, исходящими от остеобластов

Остеобласты не только производят матрикс, но и вырабатывают сигналы для вербовки остеокластов и направления их на его деградацию. Эту роль, кажется, играют два белка: один — Macrophage-CSF, с которым мы уже встречались в разговоре о кроветворении (см. табл. 23.2); другой — TNF11, член семейства TNF (называемый также RANKL). Действия остеобластов по привлечению своих противников могут показаться пагубными, однако они позволяют направить неумный аппетит остеокластов на те области ткани, в которых необходим ремонт.

Чтобы предотвратить чрезмерную деградацию матрикса, остеобласты выделяют, наряду с MCSF и TNF11, еще один белок, *остеопротегерин*, который стремится блокировать действие сигнала TNF11. Чем выше уровень активации сигнального пути Wnt в остеобластах, тем больше остеопротегерина они выделяют, и, следовательно, тем ниже уровень активации остеокластов и ниже скорость деградации

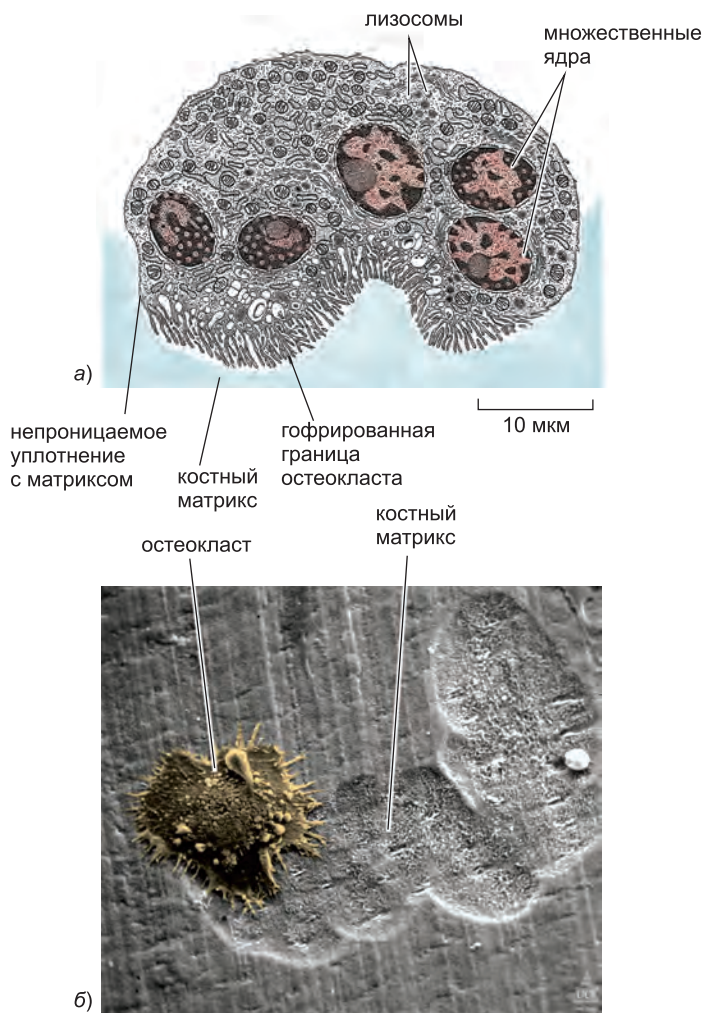


Рис. 23.59. Остеокласты. а) Рисунок остеокласта в поперечном сечении. Эта гигантская многоядерная клетка разъедает костный матрикс. Так называемая «гофрированная граница» является участком выделения кислот (для растворения минеральной составляющей кости) и гидролаз (для переваривания органической составляющей костного матрикса). Остеокласты отличаются формой, подвижны и часто выпускают отростки, чтобы рассасывать кость целым фронтом многочисленных участков. Они развиваются из моноцитов и могут рассматриваться как специализированные макрофаги. б) Остеокласт на костном матриксе, сфотографированный при помощи сканирующего электронного микроскопа. Данный остеокласт полз по матриксу, выгрызая его и оставляя за собой след из выеденных им лунок. (Рисунок а заимствован из R. V. Krstić, *Ultrastructure of the Mammalian Cell: An Atlas*. Berlin: Springer-Verlag, 1979; снимок б любезно предоставлен Alan Boyde.)

костного матрикса. Таким образом, сигнальный путь Wnt, оказывается, выполняет две разные функции при формировании кости: на ранних его стадиях он управляет первичным направлением клеток на дифференцировку в остеобласты, а на поздних — работает в дифференцированных остеобластах и помогает управлять равновесием между отложением матрикса и его эрозией.

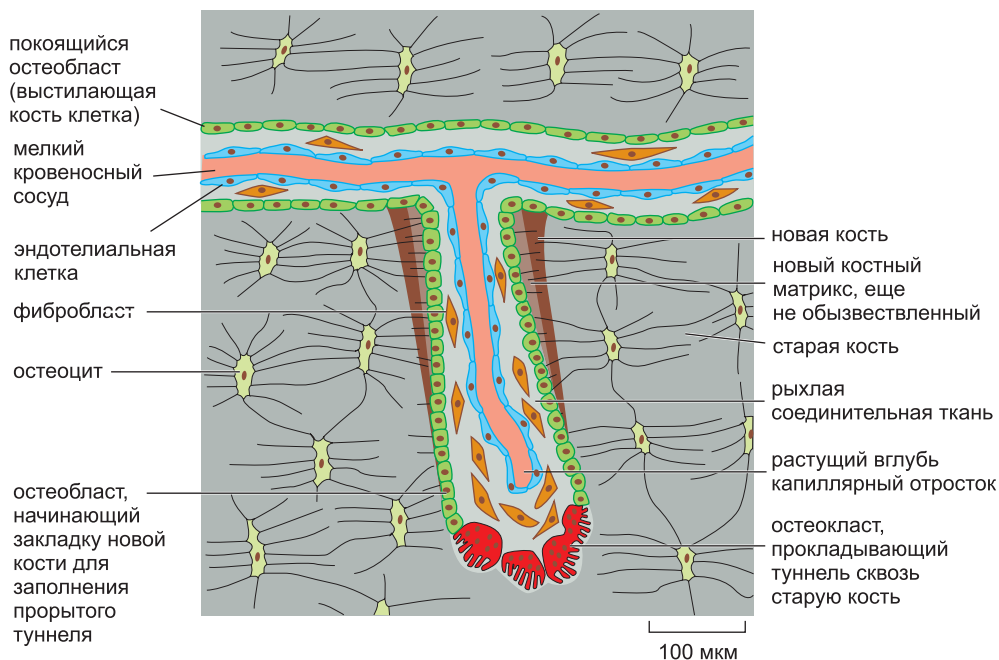


Рис. 23.60. Перестройка компактной кости. Остеокласты, работающие совместно, прогрызают туннель через старую кость, продвигаясь со скоростью около 50 мкм в день. За ними входят в туннель остеобласты, которые выстилают его стенки и начинают формировать новую кость, откладывая слои матрикса со скоростью 1–2 мкм в день. В то же время капилляр растет вглубь по центру туннеля. В конечном счете туннель заполняется концентрическими слоями новой кости, и свободным остается лишь узкий центральный проход, называемый Гаверсовым каналом. Каждый такой канал, помимо обеспечения прохода для остеокластов и остеобластов, содержит один или несколько кровеносных сосудов, которые транспортируют питательные вещества, необходимые клеткам кости для жизни. Как правило, у здорового взрослого млекопитающего таким способом ежегодно заменяется примерно 5–10 % костной ткани. (Рисунок основан на Z. F. G. Jaworski, B. Duck and G. Sekaly, *J. Anat.* 133:397–405, 1981. С любезного разрешения издательства Blackwell Publishing.)

Нарушение этого равновесия может привести к *остеопорозу*, при котором происходит чрезмерная эрозия костного матрикса и ослабление кости, или к противоположному состоянию, *остеопетрозу*, в силу которого кость становится чрезмерно толстой и плотной. Мощные воздействия на это равновесие оказывают гормональные сигналы, в том числе эстроген, андрогены и пептидный гормон *лептин*, известный благодаря своей роли в управлении аппетитом (обсудим это ниже). По крайней мере некоторые из этих воздействий опосредуются через влияния сигнала TNF11 и остеопротегерина на производство остеобластов.

Обращающиеся в кровотоке гормоны затрагивают кости всего тела. Не менее важны местные рычаги управления, что позволяют строить новую кость в одном месте, в то время как она рассасывается в другом. В ходе таких регуляторных мер по процессу перестройки, кости обладают замечательной способностью приспосабливать свою структуру в ответ на долгосрочные изменения в испытываемой ими нагрузке. Например, именно благодаря этой особенности становится возможной ортодонтия: стационарная сила, прилагаемая к зубу скобой, заставляет его посте-

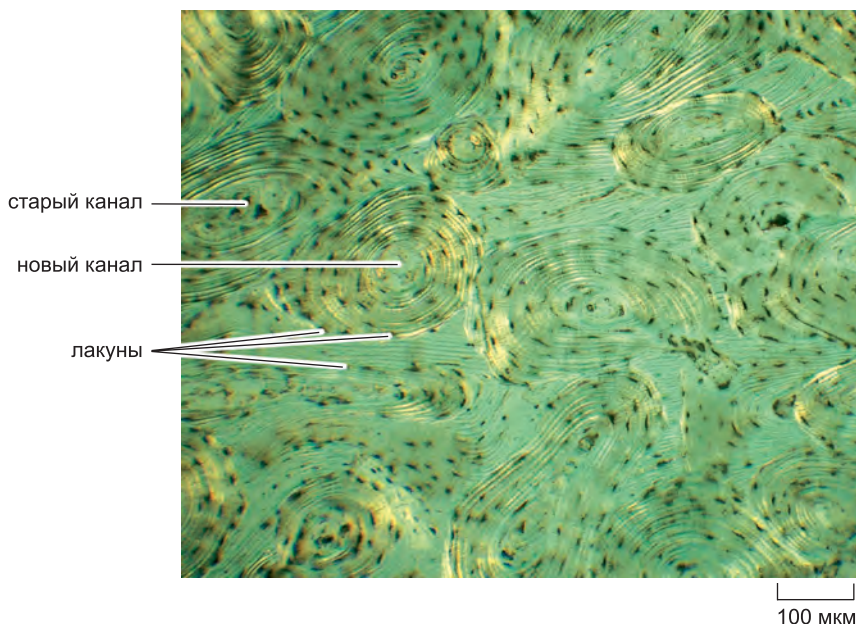


Рис. 23.61. Поперечный срез компактной длинной кости в наружной ее части. На микрофотографии видны очертания туннелей, которые сформированы остеокластами и затем заполнены остеобластами в ходе последовательных раундов перестройки кости. Срез приготовлен с помощью метода шлифовки. Твердый матрикс при этом сохраняется, а клетки погибают и удаляются. Однако лакуны и каналы, которые занимали остециты, ясно видны. Чередующиеся яркие и темные концентрические кольца соответствуют переменной ориентации волокон коллагена в последовательных слоях костного матрикса, отложенных остеобластами, которые выстлали стенку канала в течение жизни. (Данный рисунок костной структуры проявился за счет наблюдения образца при частично скрещивающихся поляризационных фильтрах.) Обратите внимание, что более старые системы концентрических слоев кости частично прорезаны и заменены более новыми системами.

пенно, на протяжении многих месяцев, смещаться через челюстную кость за счет перестройки костной ткани впереди и позади него. Адаптивное поведение кости подразумевает, что отложение и эрозия матрикса некоторым образом зависят от локальных механических напряжений (см. рис. 23.56). Некоторые факты позволяют сделать вывод о том, что в основе такой зависимости кроется механическое напряжение в костной ткани, которое активирует путь *Wnt* в остеобластах или в остеоцитах, а тем самым регулирует в них подачу сигналов, которые управляют активностью остеокластов.

В случае необходимости кость может подвергнуться намного более быстрой и масштабной перестройке. Некоторые клетки, способные образовывать новый хрящ, сохраняются в соединительной ткани, окружающей кость. Если кость сломана, то клетки в очаге перелома восстанавливают ее за счет своего рода воспроизведения процесса, происходившего в зародыше: сначала закладывается хрящ для заполнения зазора, после чего он заменяется костью. Способность к самовосстановлению, так поразительно присущая тканям скелета, является свойством живых структур, которое к сожалению не является атрибутом современных детищ человеческой цивилизации.

23.7.7. Жировые клетки могут развиваться из фибробластов

Жировые клетки, или **адипоциты**, также происходят от фибробласто-подобных клеток как в ходе нормального развития млекопитающих, так и при различных патологиях. Например, при мышечной дистрофии, когда мышечные клетки отмирают, они постепенно замещаются жировой соединительной тканью, по всей видимости, за счет превращения местных фибробластов. Дифференцировка в жировые клетки (и нормальная, и патологическая) начинается с экспрессии регуляторных белков двух семейств: семейства *СЕВР* (связывающиеся с ССААТ/энхансером белки) и семейства *PPAR* (рецепторы, активирующие пролиферацию пероксисом), в особенности *PPAR γ* . Как и семейства *MyoD* и *MEF2* в процессе развития скелетных мышц, белки *СЕВР* и *PPAR γ* стимулируют и поддерживают экспрессию друг друга через различные системы взаимной и ауторегуляции. Они работают совместно и в ходе управления экспрессией прочих генов, характерных для адипоцитов.

Производство ферментов для импорта жирных кислот и глюкозы, а также для синтеза жиров ведет к накоплению жировых капелек, состоящих главным образом из триацилглицерина (см. рис. 2.81). Потом эти капельки объединяются и увеличиваются, пока клетка не надувается до предела (до 120 мкм в диаметре), и вокруг липидного массива остается лишь тонкая оболочка цитоплазмы (рис. 23.62 и рис. 23.63). В жировой клетке ведется также синтез липаз, придающих ей способность обращать вспять процесс накопления липида, расщепляя триацилглицерины на жирные кислоты, которые могут секретироваться и использоваться на нужды других клеток. В процессе накопления и высвобождения жира жировая клетка может изменять свой объем в тысячу раз.

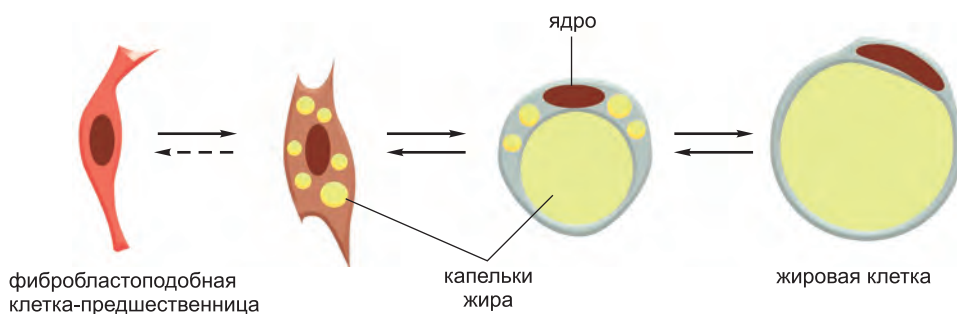
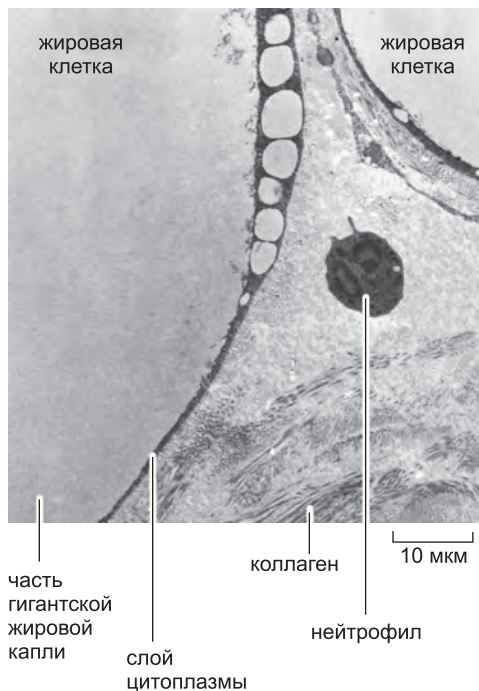


Рис. 23.62. Развитие жировой клетки. Фибробластоподобная клетка-предшественница превращается в зрелую жировую клетку за счет накопления и слияния капелек жира. Этот процесс, по крайней мере отчасти, обратим, что отмечено *стрелками*; *штриховая стрелка* указывает на неопределенность данных относительно того, может ли дифференцированная жировая клетка когда-либо возвратиться в состояние мультипотентного фибробласта. На ранних и промежуточных стадиях своего развития жировые клетки способны делиться, но зрелая жировая клетка делиться неспособна.

23.7.8. Лептин, выделяемый жировыми клетками, регулирует аппетит

Почти всем животным в естественной среде обитания приходится решать проблему отсутствия доступного питания, ведь на его источники не всегда можно положиться. Жировые клетки играют жизненно важную роль хранилища питательных веществ во времена изобилия и достатка и их источника в голодные времена.

Рис. 23.63. Жировые клетки. На электронной фотографии, сделанной при малом увеличении, показаны части двух жировых клеток. Нейтрофил, которому случилось оказаться по соседству в соединительной ткани, позволяет оценить масштаб; каждая из жировых клеток более чем в 10 раз превышает нейтрофил в диаметре и почти полностью заполнена одной огромной жировой каплей. Маленькие жировые капельки (*бледные овальные пятна*) в утолщенной области цитоплазматической оболочки со временем сольются с центральной каплей. Ни в одной из попавших в кадр жировых клеток не видно ядра. (Снимок с любезного дозволения Don Fawcett взят из книги D. W. Fawcett, *A Textbook of Histology*, 12th ed. New York: Chapman and Hall, 1994)



Таким образом, для нормального функционирования жировой ткани необходимо, чтобы ее количество на протяжении жизни организма изменялось сообразно поступлению в организм питательных веществ. Для наших предков она была благом, а для сытой половины современного мира она стала проклятием.

Скажем, в Соединенных Штатах около 30% населения страдает от ожирения, этот диагноз ставят при значении индекса массы тела ($\text{вес}/\text{рост}^2$) более $30 \text{ кг}/\text{м}^2$, что равносильно превышению идеального веса на 30%.

Определить, в какой степени изменения в количестве жировой ткани зависят от изменений числа жировых клеток (в отличие от изменений жировых клеток в размерах), нелегко. По всей вероятности, у нормального, не страдающего ожирением взрослого организма главным фактором служит изменение размера клеток, но при сильном ожирении увеличивается не только размер, но и число жировых клеток. Факторы, которые стимулируют образование новых жировых клеток, пока еще изучены не очень хорошо, хотя к ним, как полагают, относится гормон роста и IGF1 (инсулиноподобный фактор роста 1). Однако совершенно ясно, что увеличение или уменьшение размера жировой клетки напрямую зависит от уровня обращающихся в кровотоке питательных веществ и гормонов типа инсулина, количество которых, в свою очередь, также зависит от содержания питательных веществ. Таким образом, избыток питательных веществ в организме по сравнению с расходом энергии напрямую стимулирует накопление жировой ткани.

Но как регулируются собственно аппетит и расход энергии? Как отмечено ранее, за краткосрочное управление (в течение приема пищи или дня) отвечают факторы типа холецистокинина, вырабатываемые клетками кишечника в ответ на наличие пищи в просвете пищеварительного тракта. Однако, если мы не хотим планомерно толстеть или худеть, нам нужны также и средства долгосрочного управления. Фактором, наиболее важным с эволюционной точки зрения и необходимым для наших предков, имевших дело с источниками пищи, которые нередко оказывались скудными и ненадежными, было чувство голода, мотивировавшее их на поиск пропитания. Те, кто познал настоящий длительный голод, свидетельствуют о непреодолимой силе

этого чувства. Ключевым сигналом здесь служит пептидный гормон, названный **лептином**, который обычно обращается в кровотоке, когда жировые запасы адекватны, и исчезает, вызывая хроническое ощущение голода, когда они истощаются. Мутантные мыши, в крови которых нет лептина или его рецептора, чрезвычайно жирны (**рис. 23.64**). Иногда мутации в тех же генах происходят и у людей, хотя это случается очень редко. Последствия их схожи: волчий аппетит, неутолимый голод, постоянное переедание и, как следствие, ожирение.

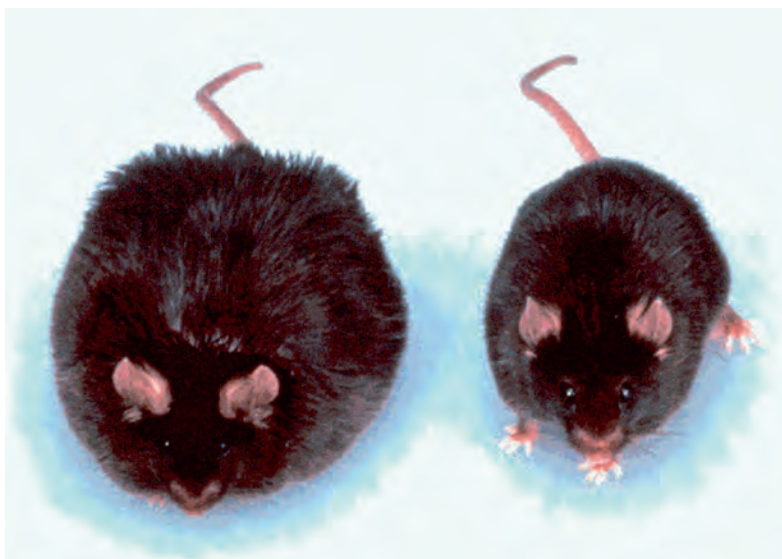


Рис. 23.64. Последствия нехватки лептина. Нормальная мышь (*справа*) в сравнении с мышью, несущей мутацию в гене *Obese*, который кодирует лептин (*слева*). Мутантка с отсутствием лептина не в состоянии умерить свой аппетит и становится гротескно жирной (в три раза увесистее обычной мыши). (Фотографии любезно предоставлены Jeffrey M. Friedman.)

Лептин обычно вырабатывается жировыми клетками; чем они крупнее, тем больше его они производят. Лептин воздействует на многие ткани, в особенности на клетки головного мозга в тех областях гипоталамуса, которые регулируют пищевое поведение (отношение к еде). Отсутствие лептина служит сигналом о голодании и обуславливает поведение организма, направленное на поиск пищи, а значит, на восстановление жировых запасов до надлежащего уровня. Таким образом, лептин, аналогично миостатину, высвобождаемому мышечными клетками, обеспечивает механизм обратной связи для регуляции роста ткани, которая его выделяет.

У большинства тучных людей уровень лептина в кровотоке постоянно высок, и все же аппетит не подавляется, даже притом что рецепторы лептина также присутствуют и функционально активны. Вполне очевидно, что основанное на обратной связи управление уровнем лептина возникло в ходе эволюции для того, чтобы спасти нас от голодной смерти, а не для того, чтобы избавить от ожирения вследствие переедания. Проживая в благополучных регионах нашей планеты, мы зависим от целого комплекса других механизмов, которые изучены не столь хорошо. А это оставляет проблему тучности весьма и весьма актуальной.

Заключение

Семейство клеток соединительной ткани включает в себя фибробласты, хрящевые клетки, костные клетки, жировые клетки и клетки гладкой мускулатуры. Фибробласты некоторых классов, скажем мезенхимальные стволовые клетки костного мозга, по-видимому, способны превращаться в любых членов этого семейства. Такие превращения между клетками соединительной ткани разного типа определяются составом окружающего их внеклеточного матрикса, их формой, а также гормонами и факторами роста.

Хрящ и кость похожи друг на друга и состоят из клеток и твердого матрикса, который эти клетки выделяют вокруг себя: хондроциты — в хряще, а остеобласты — в кости (остеоциты — это замурованные в толще костного матрикса остеобласты). Матрикс хряща поддается деформации, так что ткань может расти в ширину, тогда как кость тверда и может расти только в результате наслаивания на нее новых клеток. Эти две ткани имеют общее происхождение и тесно сотрудничают друг с другом. Так, большинство длинных костей развивается из миниатюрных хрящевых «моделей», которые во время роста служат остовами для наслаивания костной ткани. Выбор клеток между двумя путями дифференцировки — в хондроциты (требуется экспрессия гена *Sox9*) или в остеобласты (требуется экспрессия гена *Runx2*) — определяется сигнальным путем *Wnt*. В то время как остеобласты секретируют костный матрикс, они также подают сигналы для привлечения из кровотока моноцитов, которые, становясь остеокластами, занимаются деградацией костного матрикса. Остеобласты и остеоциты поддерживают равновесие между отложением и деградацией матрикса, регулируя сигналы, которые они посылают остеокластам. За счет работы клеток этих антагонистических классов кость подвергается постоянной перестройке, посредством которой она может приспосабливаться к испытываемой нагрузке и изменять свою плотность в ответ на гормональные сигналы. Более того, взрослая кость сохраняет способность восстанавливаться после переломов, прибегая к повторному включению механизмов, управлявших развитием в зародыше: клетки в месте перелома превращаются в хрящ, который позже заменяется костью.

В то время как главная функция большинства членов семейства клеток соединительной ткани состоит в секретировании внеклеточного матрикса, жировые клетки служат хранилищами жировых запасов. Благодаря системе управления на основе обратной связи количество жировой ткани поддерживается на оптимальном для организма уровне: жировые клетки выделяют гормон лептин, который действует на головной мозг; его исчезновение служит сигналом, предупреждающим об опасности голодания и запускает поведение, способствующее восстановлению жировых запасов до адекватного уровня.

23.8. Инженерия стволовых клеток

Как мы уже видели, многие ткани организма не только самообновляются, но также и самовосстанавливаются, и это в значительной степени благодаря стволовым клеткам и системе механизмов обратной связи, регулирующей их поведение. Но можем ли мы там, где изобретенные матушкой-природой механизмы дают сбой, вмешаться и достичь большего? Можем ли мы сыскать способы получения клеток для восстановления живых тканей, которые потеряны либо повреждены болезнью или раной и оказались неспособны к самопроизвольному восстановлению? Очевид-

ная стратегия состоит в использовании особых, связанных с развитием способностей стволовых клеток или клеток-предшественниц, из которых обычно образуются недостающие компоненты ткани. Но как получить такие клетки и как их пустить в дело? Все эти вопросы послужат лейтмотивом этого заключительного раздела.

23.8.1. Кроветворные стволовые клетки могут быть использованы для замены больных клеток крови здоровыми

Ранее в этой главе мы рассказывали о спасении облученных смертельной дозой мышей, лишившихся кроветворной системы, путем инъекции новых стволовых клеток, которые заселяют костный мозг и позволяют восстановить производство клеток крови. Аналогичным образом можно лечить и больных лейкемией: после лучевой нагрузки или химиотерапии, которые проводятся с целью удаления злокачественных клеток наряду с остальной частью кроветворной ткани, можно ввести здоровые, незлокачественные кроветворные стволовые клетки, которые могут быть получены из костного мозга подходящего донора. Если донор и реципиент костного мозга отличаются генетически, то возникают проблемы иммунного отторжения, но тщательный анализ иммунологической совместимости и применение иммуносупрессантов могут решить эти проблемы. В некоторых случаях, когда лейкемия является результатом мутации не в самой кроветворной стволовой клетке, а в предшественнице клеток крови специализированного типа, пациента можно спасти его (или ее) же собственными клетками. Образец костного мозга берется до облучения и сортируется, чтобы получить препарат кроветворных стволовых клеток, свободных от мутантных лейкемических клеток. Затем, после облучения, этот очищенный препарат вводят обратно пациенту.

Та же технология, в принципе, открывает путь и одной из форм генотерапии: кроветворные стволовые клетки можно выделить в культуре, генетически видоизменить с помощью трансфекции ДНК или другим способом, чтобы ввести в них желаемый ген, и затем вернуть пациенту, которому недоставало этого гена, и обеспечить тем самым самообновляемый источник отсутствующего генетического компонента. В настоящее время проходит испытания разновидность этой методики, предназначенная для лечения СПИДа: у зараженного ВИЧ пациента берут кроветворные стволовые клетки, генетически видоизменяют их так, чтобы и они сами, и их потомство были устойчивыми к вирусу, после чего вводят тому же пациенту.

23.8.2. Для восстановления тканей подходят выращенные в культуре популяции стволовых клеток эпидермиса

Еще один простой пример применения стволовых клеток — восстановление кожи после обширных ожогов. Культивируя клетки, взятые из неповрежденных участков кожи пациента, можно весьма быстро и в больших количествах получить эпидермальные стволовые клетки. Затем их можно использовать для повторного заселения поврежденной поверхности тела. Однако после ожога третьей степени для получения хороших результатов заживления важно обеспечить немедленную замену потерянной дермы. Для этого может быть использована дерма, взятая у донора (обычно в качестве доноров используют трупы), или же искусственный заменитель дермы. Сейчас эта область активно развивается. В соответствии с одной из технологий, искусственный матрикс из коллагена, смешанного с гликозаминогликаном, формуется в тонкий лист, покрытый снаружи тонкой силиконовой мембраной

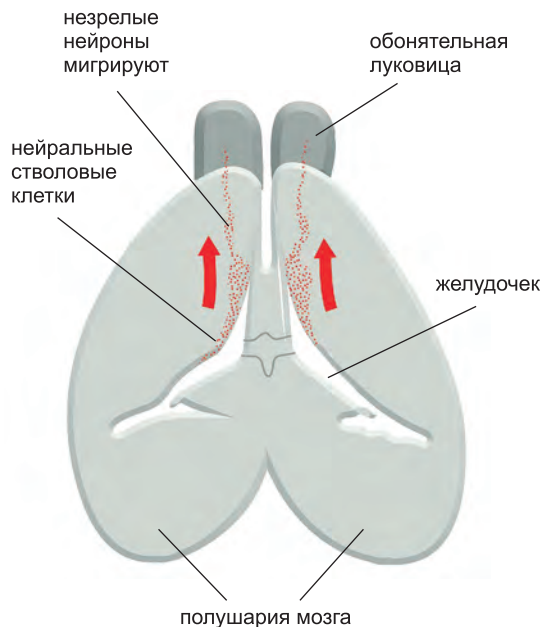
(в качестве водонепроницаемого барьера), и такой заменитель кожи (называемый «Интегра») накладывается на обожженные поверхности тела после удаления с нее поврежденной ткани. Фибробласты и кровеносные капилляры из сохранившихся более глубоких тканей пациента мигрируют в искусственный матрикс и постепенно заменяют его новой соединительной тканью. Тем временем в культуре выращивают эпидермальные клетки, пока их не станет достаточно для образования тонкого листа необходимой площади. Спустя две-три недели после первой операции мембрана из силиконового каучука осторожно удаляется и заменяется этим выращенным в культуре эпидермисом, после чего кожа полностью восстанавливается.

23.8.3. Нейральными стволовыми клетками можно манипулировать в культуре

В то время как эпидермис является одной из простейших и наиболее легко восстанавливающихся тканей, центральная нервная система (ЦНС) представляет собой наиболее сложную и, по всей видимости, наиболее трудновосстановимую во взрослом организме ткань. Головной и спинной мозг взрослого млекопитающего обладают весьма скромной способностью к самовосстановлению. Найти в организме взрослого млекопитающего стволовые клетки, способные к порождению новых нейронов, трудно — настолько трудно, что до недавнего времени их существование вообще считалось плодом фантазии отдельных ученых.

Однако теперь мы знаем, что в мозге взрослого млекопитающего действительно существуют нейральные стволовые клетки ЦНС, способные давать начало и нейронам, и глиальным клеткам. Более того, в некоторых частях мозга они непрерывно производят новые нейроны на замену погибшим (рис. 23.65). У некоторых певчих птиц оборот нейронов происходит в более заметных масштабах: каждый год у них отмирает большое число старых нейронов, заменяемых новыми. Это необходимо для разучивания птицей новой песни в очередной период гнездования.

Рис. 23.65. Непрерывное производство нейронов в мозге взрослой мыши. Мозг рассматривается сверху, на срезе, открывающем область, выстилающую желудочки переднего мозга, где обнаружены нейральные стволовые клетки. Эти клетки непрерывно порождают потомство, которое мигрирует к обонятельной луковице, где и дифференцируется в нейроны. Постоянная смена нейронов в обонятельной луковице предположительно связана некоторым образом со сменой обонятельных чувствительных нейронов, которые выпускают в нее отростки от обонятельного эпителия, о чем говорилось в этой главе ранее. У взрослого организма постоянный оборот нейронов имеет место также в гиппокампе — области, важной для обучения и памяти, где наблюдаемая у взрослых особей пластичность функции, кажется, связана со сменой определенной подгруппы нейронов. (Переработано на основе V. Barres, *Cell* 97:667–670, 1999. С великодушного разрешения издательства Elsevier.)



Доказательство того, что мозг взрослого млекопитающего содержит нейральные стволовые клетки, было получено в ходе экспериментов, в которых фрагменты мозговой ткани были отделены и использованы для основания новых клеточных культур. При создании в культуре подходящих условий, клетки, полученные из соответствующей области мозга, формируют плавающие «нейросферы» — группы, состоящие из нейральных стволовых клеток, наряду с порождаемыми ими нейронами и глиальными клетками. Эти нейросферы можно размножить на протяжении многих поколений или брать их клетки в любое время и вживлять обратно в мозг животного. В нем они произведут дифференцированное потомство в форме нейронов и глиальных клеток.

Создав несколько иные условия культивирования, с правильной комбинацией факторов роста в среде, нейральные стволовые клетки можно выращивать в виде монослоя и заставлять их пролиферировать почти как чистую популяцию стволовых клеток без сопутствующего дифференцированного потомства. Путем последующего изменения условий в культуре эти клетки в любое время можно заставить дифференцироваться и производить смесь нейронов и глиальных клеток (рис. 23.66) или клетки только одного из этих двух типов, в зависимости от состава культуральной среды.

Чистые культуры пролиферирующих нейральных стволовых клеток ценны не только лишь как источник клеток для трансплантации. С их помощью нам предстоит изучить факторы, определяющие состояние «стволовости» и управляющие переключением клеток на дифференцировку. Так как такими клетками можно генетически манипулировать посредством трансфекции ДНК и других методов,

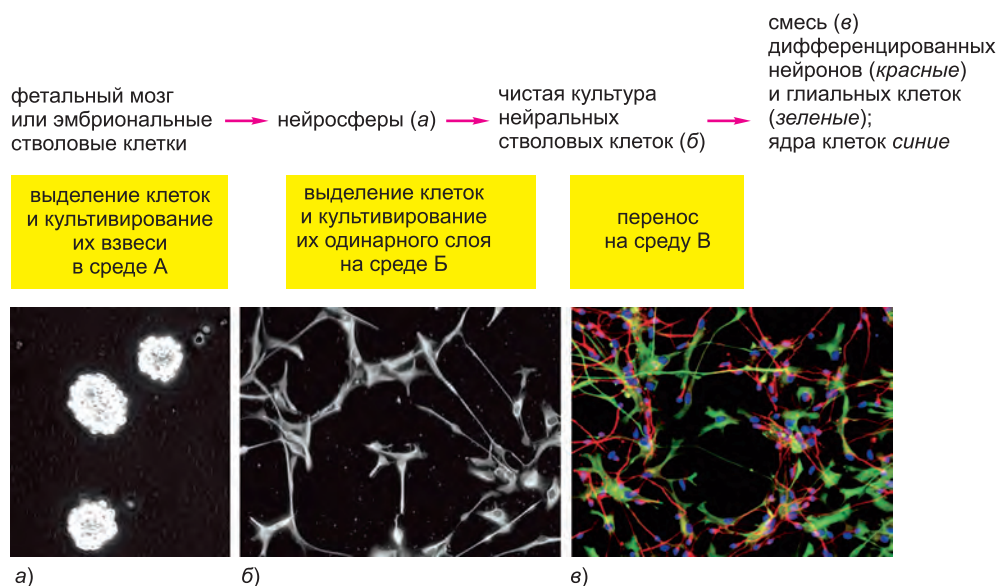


Рис. 23.66. Нейральные стволовые клетки. На фотографиях представлены этапы, ведущие от мозговой ткани плода, через нейросферы (а), к чистой культуре нейральных стволовых клеток (б). Эти стволовые клетки можно бесконечно долго поддерживать пролиферирующими или, путем изменения среды, можно заставить их дифференцироваться (в) в нейроны (красные) и глиальные клетки (зеленые). Нейральные стволовые клетки с теми же свойствами могут быть получены аналогичными манипуляциями из эмбриональных стволовых клеток. (Микрофотографии взяты из L. Conti et al., *PLoS 3*: 1594–1606, 2005. С любезного разрешения Public Library of Science.)

они открывают новые пути к исследованию роли определенных генов в этих процессах и в обусловленных мутациями нейродегенеративных заболеваниях. Кроме того, они открывают горизонты для развития генной инженерии нервных клеток, призванной найти способы лечения заболеваний нервной системы.

23.8.4. Нейральные стволовые клетки способны повторно заселить центральную нервную систему

Нейральные стволовые клетки, пересаженные в мозг взрослого организма, обнаруживают замечательную способность приспосабливать свое поведение к новому окружению. Например, стволовые клетки из гиппокампа мыши, вживленные в область предшественника обонятельной луковицы мыши (см. рис. 23.65), дают нейроны, которые надлежащим образом включаются в обонятельную луковицу. Эта способность нейральных стволовых клеток и их потомства приспосабливаться к новой окружающей среде обещает в будущем их клиническое применение при лечении болезней, приводящих к вырождению нейронов или потере ими своих миелиновых оболочек, а также при повреждениях центральной нервной системы. Так, нейральные стволовые клетки (полученные из ткани плода человека) были пересажены в спинной мозг мышей, утративших способность ходить вследствие повреждения спинного мозга или мутации, приводящей к дефектной миелинизации; подопытные мыши были иммунодефицитны и потому не отторгли вживленные клетки. Пересаженные человеческие клетки давали начало и нейронам, соединявшимся с нейронами реципиента, и олигодендроцитам, образывавшим новые миелиновые оболочки вокруг демиелинированных аксонов реципиента. В итоге, у этих мышей частично восстанавливалась способность управлять конечностями.

Подобные результаты вселяют надежду на то, что, несмотря на необычайную сложность нервных клеток всех типов и связей между нейронами, человечество научится использовать нейральные стволовые клетки для того, чтобы восстанавливать центральную нервную систему хотя бы после некоторых повреждений и заболеваний.

23.8.5. Стволовые клетки взрослого организма тканеспецифичны

Когда клетки выделяют из организма и поддерживают в культуре или пересаживают из одного участка тела в другой, как в только что описанных нами процедурах, они чаще всего остаются тем, чем они были раньше. Кератиноциты продолжают вести себя как кератиноциты, кроветворные клетки — как кроветворные клетки, нейральные клетки — как нейральные клетки и так далее. Однако, будучи помещенными в необычную для них среду, дифференцированные клетки могут начать утрачивать свои свойства, а стволовые клетки могут утрачивать свой пролиферативный потенциал; но даже при этом они никогда не превращаются в клетки какого-либо радикально отличного типа. Таким образом, специализированные клетки сохраняют память об истории своего развития и остаются верны своему специализированному характеру. Да, некоторые ограниченные преобразования действительно могут происходить, как мы видели, например, при описании семейства клеток соединительной ткани. Некоторые стволовые клетки могут производить на свет большое разнообразие окончательно дифференцированных клеток, но и их возможности небезграничны. Стволовые клетки каждого типа служат только лишь для обновления какого-то одного типа тканей.

Очевидно, возможности применения стволовых клеток для практических целей были бы намного больше, если бы они были более универсальными и менее специализированными, если бы можно было брать их из ткани одного типа, где они легкодоступны, и использовать для восстановления другой ткани, где они более необходимы. Так, в прошлом десятилетии весь научный — да и не только — мир взбудоражили сообщениями, что в определенных условиях стволовые клетки различных специализированных тканей могут быть удивительно пластичны в плане развития и производить клетки радикально отличающихся типов: например, кроветворные стволовые клетки могут давать нейроны, а нервные стволовые клетки — мышечные. Однако достоверность этих результатов вызвала определенные сомнения, и, действительно в некоторых ключевых экспериментах обнаружили ошибки. Например, многие кажущиеся случаи таких переключений дифференцировки клеток, как теперь думают, являются результатом слияния клеток, в ходе которых ядра специализированной клетки одного типа подвергаются действию цитоплазмы клетки другого типа, и вследствие этого включают экспрессию иного набора генов. В любом случае в большинстве сообщений о взаимопревращениях радикально отличающихся клеток взрослых организмов признается, что эти события крайне редки. И хотя исследования в направлении изучения крайних форм пластичности стволовых клеток активно продолжаются, мы еще не знаем, как реализовывать такие прямые взаимопревращения в достаточно большом масштабе или достаточно надежно, если это вообще возможно, без чего их использование в клинической практике не состоится.

Нельзя сказать, что радикальное преобразование клеток из одного дифференцированного типа в другой — недостижимая мечта или что эффективные способы воплощения его в жизнь никогда не будут найдены. Некоторые не относящиеся к млекопитающим виды способны регенерировать потерянные ткани и органы как раз путем таких взаимопревращений. Например, саламандра может регенерировать ампутированную конечность, запуская процесс, в котором дифференцированные клетки возвращаются к зародышевому характеру и воспроизводят развитие конечности — как это происходит у эмбриона. Дифференцированные многоядерные мышечные клетки в оставшейся культе конечности возобновляют деление, дедифференцируются и разбиваются на одноядерные клетки; затем они разрастаются и формируют зачаток, подобный зачаткам конечностей эмбриона, и в конечном счете повторно дифференцируются в клетки всех типов, необходимых для восстановления недостающей части конечности (рис. 23.67). Какие молекулярные механизмы отвечают за это, равно как и за многие другие удивительные случаи регенерации, и что произошло в ходе эволюции с этими механизмами у млекопитающих — все еще глубокая тайна.

23.8.6. Эмбриональные стволовые клетки можно использовать для «изготовления» любой части тела

В то время как стволовые клетки взрослых тканей млекопитающего, по всей видимости, весьма ограничены в своих возможностях, имеющиеся у млекопитающих стволовые клетки другого типа необычайно разносторонни. Как описано в главах 8 и 22, можно взять ранний эмбрион мышцы на стадии бластоцисты и в клеточной культуре получить из него стволовые клетки особого класса, называемые **эмбриональными стволовыми клетками (embryonic stem cells)** и обозначаемые **ЭС**, или **ES, клетками** (были описаны ранее в главе 22). ES клетки могут продолжать разрастаться в культуре неограниченно долго и при этом сохранять неограниченный

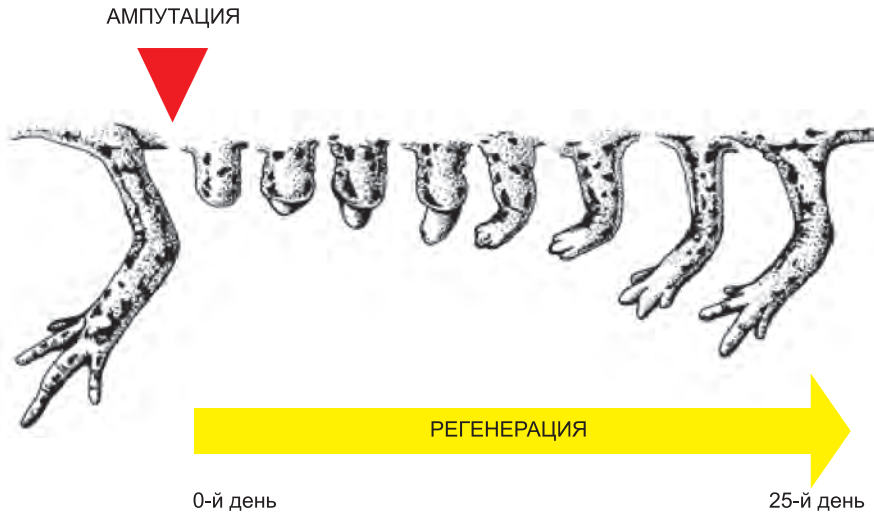


Рис. 23.67. Регенерация конечности саламандры. Постадийная регенерация конечности аксолотля из культи на уровне плечевой кости. В последовательности представлены следующие стадии регенерации: заживление раны, дедифференцировка, бластема и повторная дифференцировка. Полное время отмеченных событий приблизительно равно 20–30 дням. (Изображение любезно предоставили Susan Bryant и David Gardiner.)

потенциал развития. Если ES клетки поместить обратно в бластоцисту, они включаются в тело зародыша и дают начало тканям и клеткам всех типов, необходимых для построения тела, в том числе и зародышевым клеткам, то есть ведут себя как полноценные плюрипотентные клетки. Процесс развития организма можно рассматривать как последовательность решений, осуществляемых клетками по мере их продвижения по пути от оплодотворенного яйца к окончательной дифференцировке. Вполне очевидно, что после длительного пребывания в культуре ES клетка и ее потомство по-прежнему могут воспринимать управляющие сигналы на развилках дифференцировки и реагировать на них так же, как и нормальные эмбриональные клетки. Однако если ES клетки внедряют непосредственно в зародыш на более поздних стадиях его развития или даже во взрослую ткань, то они не проходят всех надлежащих стадий дифференцировки; в таком случае их дифференцировка не управляется должным образом, и они нередко дают начало опухолям.

В настоящее время из ранних эмбрионов человека и их эмбриональных клеток плода человека могут быть получены клетки со свойствами, аналогичными свойствам ES клеток мыши, они могут быть использованы для создания теоретически неисчерпаемого источника клеток, которые можно было бы использовать для замены и ремонта всех человеческих тканей в случае их повреждения. Хотя многие высказывают сомнения в этичности использования эмбрионов человека, не стоит закрывать глаза на возможности, открываемые перед нами этими технологиями. Хотя скорее всего мечты о выращивании целых органов из ES клеток путем воспроизводства эмбрионального развития так и останутся только мечтами, эксперименты на мышях позволяют утверждать, что в будущем у нас появится возможность использовать ES клетки для замены скелетных мышечных волокон, которые вырождаются у жертв мышечной дистрофии; нервных клеток, которые умирают

у пациентов с болезнью Паркинсона; выделяющих инсулин клеток, которых не хватает у страдающих диабетом I типа; клеток сердечной мышцы, которые гибнут во время инфаркта, и так далее.

Если ES клетки предстоит использовать для такого рода восстановления тканей, то сначала нужно будет направлять их дифференцировку по требуемому пути развития. Путем обработки соответствующими комбинациями сигнальных белков и факторов роста выращиваемые в культуре ES клетки можно заставить дифференцироваться в клетки самых разных типов (рис. 23.68). Например, их можно использовать для получения нейросфер и нейральных стволовых клеток. Нейральные стволовые клетки, полученные из ES клеток мыши, как и те, что получены из мозговой ткани, могут быть имплантированы в мозг взрослой мыши, где они дифференцируются в нейроны и глиальные клетки. Если реципиенту не хватает формирующих миелиновую оболочку олигодендроцитов, то пересаженные предшественницы олигодендроцитов, полученные из ES стволовых клеток, могут компенсировать их нехватку и одеть миелиновыми покровами аксоны, которые их лишены.

23.8.7. Пациент-специфичные ES клетки могут решить проблему иммунного отторжения

Прежде чем ES клетки можно будет эффективно использовать для восстановления тканей у человека, ученым предстоит решить множество проблем. Одной

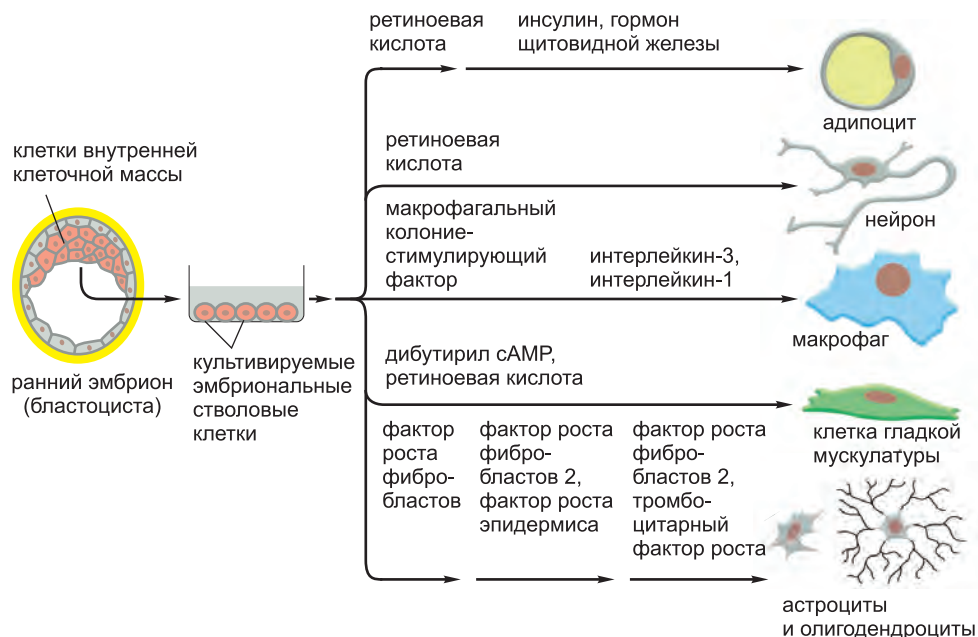


Рис. 23.68. Получение дифференцированных клеток из ES клеток мыши в культуре. ES клетки, полученные из раннего эмбриона мыши, можно сколько угодно долго культивировать в виде одноклеточного слоя или позволить этим клеткам образовывать скопления, называемые эмбриоидными тельцами, в которых они начинают специализироваться. Клетки из таких эмбрионоподобных тел, культивируемых в средах с добавлением разных факторов, можно заставить дифференцироваться разными способами. (Схема составлена по мотивам E. Fuchs and J. A. Segre, *Cell* 100:143–155, 2000. С любезного разрешения издательства Elsevier.)

из наиболее серьезных проблем, ограничивающих применение не только ES, но также и стволовых клеток взрослого организма, является иммунное отторжение. Если клетки данного генотипа, полученные из ES клеток, пересадить генетически отличающемуся индивиду, то пересаженные клетки, скорее всего, будут отторгнуты иммунной системой как чужеродные. Для трансплантации таких органов, как почка и сердце, разработаны способы, позволяющие обойти эту проблему, например, с помощью иммуносупрессоров, однако эти методы далеко не идеальны.

Чтобы полностью избежать иммунологических проблем, нужно пересаживать такие клетки, которые были бы генетически идентичны клеткам реципиента. В связи с этим возникает вопрос: можно ли искусственно получать ES клетки с тем же генотипом, что и у пациента, нуждающегося в пересадке? Как показано в главе 8, один из возможных путей — *перенос ядер соматических клеток*. В ходе этой процедуры, пока еще не применимой к человеку, несмотря на некоторые обнадеживающие успехи, ядро из яйцеклетки донора — а ей может быть любая женщина — заменяется на ядро из соматической клетки пациента. Из этого гибридного ооцита может быть получена бластоциста, а из бластоцисты — ES клетки, которые будут содержать ядерный геном пациента и должны, в принципе, быть пригодны для пересадки без риска иммунного отторжения. Однако, несмотря на кажущуюся легкость, эта процедура довольно трудна и далека от той стадии, на которой ее можно было бы использовать для лечения.

Было бы проще, если бы мы могли создать стволовоподобную клетку из соматических клеток самого пациента, управляя экспрессией генов более прямым способом. Первый шаг на пути к этой цели — идентифицировать ключевые особенности характера ES клеток — основные регуляторные белки, определяющие эти свойства. Сравнительные исследования по биохимии ES клеток с клетками других типов позволили выявить небольшой круг кандидатов на эту роль. Эти белки могут быть проверены путем ввода конструкций для экспрессии соответствующих генов в дифференцированные клетки типа фибробластов, которые можно вырастить в культуре. Комбинация из четырех регуляторных белков (Oct3/4, Sox2, Muc и Klf4)³, похоже, способна превращать фибробласты в клетки с ES-подобными свойствами (iPS, от англ. induced pluripotent stem cells), включая способность дифференцироваться различными способами. Эффективность этого превращения ничтожно мала — лишь малая доля фибробластов, содержащих эти трансгены, превращается в iPS; к тому же iPS клетки отличаются от истинных ES клеток существенным образом. Тем не менее эти эксперименты показывают, что такой подход тоже может быть перспективен.

23.8.8. ES клетки можно использовать для поиска лекарственных препаратов и изучения причин болезни

Хотя трансплантация клеток, полученных из ES клеток, для лечения болезней человека пока еще кажется делом отдаленного будущего, существуют и другие области применения ES клеток, где их уникальные свойства могут быть использованы уже сегодня. Например, их можно использовать для получения больших однородных популяций дифференцированных клеток определенного типа; последние в свою

³ Набор из четырех транскрипционных факторов Oct3/4, Sox2, Muc и Klf4, способный перепрограммировать дифференцированные клетки в стволовые, получил название «квартет Яманаки», в честь открывшего его японского ученого. В настоящее время описан ряд других наборов, перепрограммирующих клетки в стволовые, например, «квартет Томсона»: Oct4, Sox2, Lin28 и Nanog. — *Прим. ред.*

очередь могут применяться для проверки эффектов большого числа химических соединений в поиске новых лекарств, действующих на клетки человека определенного генотипа. Более того, аналогичные описанным выше методы могут позволить создавать iPS клетки, содержащие геномы пациентов, страдающих от какого-либо генетического заболевания, и также использовать эти специфические для данного пациента стволовые клетки для поиска лекарств для лечения данного расстройства. Такие клетки могут использоваться и для изучения самого механизма развития этой болезни. А на фундаментальном уровне манипуляции с ES клетками в культуре должны помочь нам приоткрыть хотя бы некоторые из многочисленных тайн биологии стволовых клеток.

Нам предстоит решить серьезные этические проблемы и преодолеть огромные технические трудности, прежде чем использование стволовых клеток в медицине войдет в повседневную практику и даст ученым уникальный инструмент, о котором сегодня можно только мечтать. Но так или иначе, клеточная биология начинает понемногу открывать нам новые возможности для усовершенствования и без того уникальных механизмов репарации тканей.

Заключение

Стволовыми клетками можно искусственно манипулировать и использовать их как для лечения болезней, так и для других целей, таких, скажем, как поиск лекарственных препаратов. Кроветворные стволовые клетки можно вводить больным лейкемией, чтобы заменить пораженную недугом кроветворную систему, а эпидермальные стволовые клетки, взятые с неповрежденной кожи человека с ожогами, можно быстро размножить в культуре и пересадить на обожженные участки, чтобы восстановить на них эпидермис. Из некоторых областей мозга плода или взрослого могут быть получены нейральные стволовые клетки, которые при пересадке в поврежденный мозг дифференцируются в нейроны и глиальные клетки, встраивающиеся в ткань реципиента, что приводит к частичному восстановлению ткани, — по крайней мере, в экспериментах на животных.

*В нормальном взрослом организме стволовые клетки каждого типа дают начало дифференцированным клеткам ограниченного диапазона. Хотя было много сообщений о пластичности стволовых клеток, выходящей за эти ограничения, соответствующие экспериментальные данные нельзя считать надежными. Однако эмбриональные стволовые клетки (ES клетки) действительно способны дифференцироваться в клетки любого присутствующего организму типа, и их можно превратить *in vitro* в клетки многих разновидностей. Из ES клеток возможно, например, получать линии нейральных стволовых клеток, которые будут неограниченно разрастаться как чистые культуры стволовых клеток, но в любое время смогут откликнуться на соответствующее изменение условий в культуре, дифференцируясь в нейроны и глию. Методы получения iPS клеток из клеток тканей взрослых индивидов находятся на стадии активной разработки. В принципе, такие iPS клетки, несущие геном определенного пациента, можно использовать для репарации ткани, избежав при этом проблеме иммунного отторжения. В менее отдаленной перспективе они обеспечат инструмент для проводимых *in vitro* исследований физиологии и фармакологии клеток любого нормального или патологического генотипа и для поиска лекарств, оказывающих на эти клетки желаемое действие.*

Литература

Общая

Fawcett D.W. (1994) Bloom and Fawcett: A Textbook of Histology, 12th ed. New York/London: Arnold/Chapman & Hall.

Kerr J.B. (1999) Atlas of Functional Histology. London: Mosby.

Lanza R., Gearhart J., Hogan B. et al. (eds.) (2004). Handbook of Stem Cells. Amsterdam: Elsevier.

Young B., Lowe J.S., Stevens A. & Heath J.W. (2006) Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas, 5th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone/Elsevier.

Эпидермис и его обновление стволовыми клетками

Fuchs E. (2007) Scratching the surface of skin development. *Nature* 445: 834–842.

Imagawa W., Yang J., Guzman R. & Nandi S. (1994) Control of mammary gland development. In The Physiology of Reproduction (Knobil E. & Neill J.D. eds.), 2nd ed., pp. 1033–1063. New York: Raven Press.

Ito M., Yang Z., Andl T. et al. (2007) Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding. *Nature* 447: 316–320.

Jacinto A., Martinez-Arias A. & Martin P. (2001) Mechanisms of epithelial fusion and repair. *Nature Cell Biol.* 3: E117–123.

Jensen L.I.B., Lowell S. & Watt F.M. (1999) The spatial relationship between stem cells and their progeny in the basal layer of human epidermis: a new view based on whole-mount labelling and lineage analysis. *Development* 126: 2409–2418.

Prince J.M., Klinowska T.C., Marshman E. et al. (2002) Cell-matrix interactions during development and apoptosis of the mouse mammary gland *in vivo*. *Dev. Dyn.* 223: 497–516.

Shackleton M., Vaillant F., Simpson K.J. et al. (2006) Generation of a functional mammary gland from a single stem cell. *Nature* 439: 84–88.

Shinin V., Gayraud-Morel B., Gomes D. & Tajbakhsh S. (2006) Asymmetric division and cosegregation of template DNA strands in adult muscle satellite cells. *Nature Cell Biol.* 8: 677–687.

Stanger B.Z., Tanaka A.J. & Melton D.A. (2007) Organ size is limited by the number of embryonic progenitor cells in the pancreas but not the liver. *Nature* 445: 886–891.

Steinert P.M. (2000) The complexity and redundancy of epithelial barrier function. *J. Cell Biol.* 151: F5–F8.

Watt F.M., Lo Celso C. & Silva-Vargas V. (2006) Epidermal stem cells: an update. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 16: 518–524.

Нейроэпителий

Axel R. (2005) Scents and sensibility: a molecular logic of olfactory perception (Nobel lecture). *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 44: 6110–6127.

Buck L.B. (2000) The molecular architecture of odor and pheromone sensing in mammals. *Cell* 100: 611–618.

Howard J. & Hudspeth A.J. (1988) Compliance of the hair bundle associated with gating of mechano-electrical transduction channels in the bullfrog's saccular hair cell. *Neuron* 1: 189–199.

Izumikawa M., Minoda R., Kawamoto K. et al. (2005) Auditory hair cell replacement and hearing improvement by Atoh1 gene therapy in deaf mammals. *Nature Med.* 11: 271–276.

Masland R. H. (2001) The fundamental plan of the retina. *Nature Neurosci.* 4: 877–886.

Mombaerts P. (2006) Axonal wiring in the mouse olfactory system. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 22: 713–737.

Mombaerts P., Wang F., Dulac C. et al. (1996) Visualizing an olfactory sensory map. *Cell* 87: 675–686.

Morrow E. M., Furukawa T. & Cepko C. L. (1998) Vertebrate photoreceptor cell development and disease. *Trends Cell Biol.* 8: 353–358.

Pazour G. J., Baker S. A., Deane J. A. et al. (2002) The intraflagellar transport protein, IFT88, is essential for vertebrate photoreceptor assembly and maintenance. *J. Cell Biol.* 157: 103–113.

Stone J. S. & Rubel E. W. (2000) Cellular studies of auditory hair cell regeneration in birds. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 11714–11721.

Vollrath M. A., Kwan K. Y. & Corey D. P. (2007) The micromachinery of mechanotransduction in hair cells. *Annu. Rev. Neurosci.* 30: 339–365.

Дыхательные пути и кишечник

Batlle E., Henderson J. T., Beghtel H. et al. (2002) Beta-catenin and TCF mediate cell positioning in the intestinal epithelium by controlling the expression of EphB/ephrinB. *Cell* 111: 251–263.

Bjerknes M. & Cheng H. (1999) Clonal analysis of mouse intestinal epithelial progenitors. *Gastroenterology* 116: 7–14.

Crosnier C., Stamatakis D. & Lewis J. (2006) Organizing cell renewal in the intestine: stem cells, signals and combinatorial control. *Nature Rev. Genet.* 7: 349–359.

Dor Y., Brown J., Martinez O. I. & Melton D. A. (2004) Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 429: 41–46.

Fre S., Huyghe M., Mourikis P. et al. (2005) Notch signals control the fate of immature progenitor cells in the intestine. *Nature* 435: 964–968.

Haramis A. P., Beghtel H., van den Born M. et al. (2004) Denovo crypt formation and juvenile polyposis on BMP inhibition in mouse intestine. *Science* 303: 1684–1686.

Kim C. F., Jackson E. L., Woolfenden A. E. et al. (2005) Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell* 121: 823–835.

Li L. & Xie T. (2005) Stem cell niche: structure and function. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21: 605–631.

Sancho E., Batlle E. & Clevers H. (2004) Signaling pathways in intestinal development and cancer. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20: 695–723.

Sansom O. J., Reed K. R., Hayes A. J. et al. (2004) Loss of Ape in vivo immediately perturbs Wnt signaling, differentiation, and migration. *Genes. Dev.* 18: 1385–1390.

Taub R. (2004) Liver regeneration: from myth to mechanism. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 5: 836–847.

van Es J. H., van Gijn M. E., Riccio O. et al. (2005) Notch/gamma-secretase inhibition turns proliferative cells in intestinal crypts and adenomas into goblet cells. *Nature* 435: 959–963.

Кровеносные сосуды, лимфатические сосуды и клетки эндотелия

Adams R. H. (2003) Molecular control of arterial-venous blood vessel identity. *J. Anat.* 202: 105–112.

Carmeliet P. & Tessier-Lavigne M. (2005) Common mechanisms of nerve and blood vessel wiring. *Nature* 436: 193–200.

Folkman J. & Haudenschild C. (1980) Angiogenesis in vitro. *Nature* 288: 551–556.

Folkman J. (1996) Fighting cancer by attacking its blood supply. *Sci. Am.* 275: 150–154.

Gerhardt H., Golding M., Fruttiger M. et al. (2003) VEGF guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. *J. Cell Biol.* 161: 1163–1177.

Hellstrom M., Phng L. K., Hofmann J. J. et al. (2007) DII4 signalling through Notchi regulates formation of tip cells during angiogenesis. *Nature* 445: 776–780.

Lawson N. D. & Weinstein B. M. (2002) In vivo imaging of embryonic vascular development using transgenic zebrafish. *Dev. Biol.* 248: 307–318.

Lindahl P., Johansson B. R., Leveen P. & Betsholtz C. (1997) Pericyte loss and microaneurysm formation in PDGF-B-deficient mice. *Science* 277: 242–245.

Oliver G. & Alitalo K. (2005) The lymphatic vasculature: recent progress and paradigms. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21: 457–483.

Pugh C. W. & Ratcliffe P. J. (2003) Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nature Med.* 9: 677–684.

Обновление мультипотентных стволовых клеток: образование клеток крови

Allsopp R. C., Morin G. B., DePinho R., Harley C. B. & Weissman I. L. (2003) Telomerase is required to slow telomere shortening and extend replicative lifespan of HSCs during serial transplantation. *Blood* 102: 517–520.

Calvi L. M., Adams G. B., Weibrecht K. W. et al. (2003) Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature* 425: 841–846.

Hock H., Hamblen M. J., Rooke H. M. et al. (2004) Gfi-1 restricts proliferation and preserves functional integrity of haematopoietic stem cells. *Nature* 431: 1002–1007.

Metcalfe D. (1980) Clonal analysis of proliferation and differentiation of paired daughter cells: action of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor on granulocyte-macrophage precursors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 5327–5330.

Metcalfe D. (1999) Stem cells, pre-progenitor cells and lineage-committed cells: are our dogmas correct? *Annu. NY Acad. Sci.* 872: 289–303.

Orkin S. H. (2000) Diversification of haematopoietic stem cells to specific lineages. *Nature Rev. Genet.* 1: 57–64.

Reya T., Duncan A. W., Allies L. et al. (2003) A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature* 423: 409–414.

Shizuru J. A., Negrin R. S. & Weissman I. L. (2005) Hematopoietic stem and progenitor cells: clinical and preclinical regeneration of the hematology system. *Annu. Rev. Med.* 56: 509–538.

Wintrobe M. M. (1980) Blood, Pure and Eloquent. New York: McGraw-Hill.

Происхождение, изменчивость и регенерация скелетных мышц

Andersen J. L., Schjerling P. & Saltin B. (2000) Muscle, genes and athletic performance. *Sci. Am.* 283: 48–55.

Bassel-Duby R. & Olson E.N. (2006) Signaling pathways in skeletal muscle remodeling. *Annu. Rev. Biochem.* 75: 19–37.

Buckingham M. (2006) Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 16: 525–532.

Collins C.A., Olsen I., Zammit P.S. et al. (2005) Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell* 122: 289–301.

Lee S.J. (2004) Regulation of muscle mass by myostatin. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 20: 61–86.

Weintraub H., Davis R., Tapscott S. et al. (1991) The myoD gene family: nodal point during specification of the muscle cell lineage. *Science* 251: 761–766.

Фибробласты и их превращения: семейство клеток соединительной ткани

Benay P.D. & Shaffer J.D. (1982) Dedifferentiated chondrocytes reexpress the differentiated collagen phenotype when cultured in agarose gels. *Cell* 30: 215–224.

Day T.F., Guo X., Garrett-Beal L. & Yang Y. (2005) Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. *Dev. Cell* 8: 739–750.

Flier J.S. (2004) Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell* 116: 337–350.

Glass D.A., Bialek P., Ahn J.D. et al. (2005) Canonical Wnt signaling in differentiated osteoblasts controls osteoclast differentiation. *Dev. Cell* 8: 751–764.

Karsenty G. & Wagner E.F. (2002) Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development. *Dev. Cell* 2: 389–406.

Kronenberg H.M. (2003) Developmental regulation of the growth plate. *Nature* 423: 332–336.

Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. (1999) Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 284: 143–147.

Rinn J.L., Bondre C., Gladstone H.B., Brown P.O. & Chang H.Y. (2006) Anatomic demarcation by positional variation in fibroblast gene expression programs. *PLoS Genet.* 2:e119.

Rosen E.D. & Spiegelman B.M. (2006) Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature* 444: 847–853.

Schafer M. & Werner S. (2007) Transcriptional control of wound repair. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* in press.

Seeman E. & Delmas P.D. (2006) Bone quality – the material and structural basis of bone strength and fragility. *N. Engl. J. Med.* 354: 2250–2261.

Zelzer E. & Olsen B.R. (2003) The genetic basis for skeletal diseases. *Nature* 423: 343–348.

Инженерия стволовых клеток

Brookes J.P. & Kumar A. (2005) Appendage regeneration in adult vertebrates and implications for regenerative medicine. *Science* 310: 1919–1923.

Brustle O., Jones K.N., Learish R.D. et al. (1999) Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants. *Science* 285: 754–756.

Conti L., Pollard S.M., Gorba T. et al. (2005) Niche-independent symmetrical self-renewal of a mammalian tissue stem cell. *PLoS Biol.* 3: e283.

- Eggan K., Baldwin K., Tackett M. et al. (2004) Mice cloned from olfactory sensory neurons. *Nature* 428: 44–49.
- Lee T.I., Jenner R.G., Boyer L.A. et al. (2006) Control of developmental regulators by Polycomb in human embryonic stem cells. *Cell* 125: 301–313.
- Ming G.L. & Song H. (2005) Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu. Rev. Neurosci.* 28: 223–250.
- Okita K., Ichisaka T. & Yamanaka S. (2007) Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* in press.
- Raff M. (2003) Adult stem cell plasticity: fact or artifact? *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 19: 1–22.
- Schulz J.T., 3rd, Tompkins R.G. & Burke J.F. (2000) Artificial skin. *Annu. Rev. Med.* 51: 231–244.
- Suhonen J.O., Peterson D.A., Ray J. & Gage F.H. (1996) Differentiation of adult hippocampus-derived progenitors into olfactory neurons in vivo. *Nature* 383: 624–627.
- Wagers A.J. & Weissman I.L. (2004) Plasticity of adult stem cells. *Cell* 116: 639–648.

Патогены, инфекция и врожденный иммунитет

В настоящее время инфекционные заболевания становятся причиной трети смертей у населения земного шара — это больше, чем число смертей, вызванных всеми формами злокачественных опухолей вместе взятыми. Вдобавок к нескончаемому тяжелому бремени древних болезней, таких как туберкулез и малярия, непрерывно появляются новые инфекционные заболевания, среди которых принявший пандемические (всемирной эпидемии) масштабы СПИД (*синдром приобретенного иммунодефицита*), уже ставший причиной более 25 миллионов смертей по всему миру. Более того, мало-помалу раскрывается ранее не подозреваемая инфекционная причина многих болезней. Например, в большинстве случаев язвенные болезни желудка обусловлены не стрессом или острой пищей, как думали в свое время, а бактериальным поражением желудка, вызванным *Helicobacter pylori*.

Бремя инфекционных заболеваний распределено по планете неравномерно. Более бедные страны и регионы страдают от них несоизмеримо больше. Очень часто распространенность инфекционных заболеваний сопряжена с плохими санитарными условиями и неразвитой системой общественного здравоохранения, которые нередко еще сильнее ухудшаются из-за стихийных бедствий или политических беспорядков. Однако некоторые инфекционные заболевания встречаются преимущественно (или даже исключительно) в промышленно развитых странах: недавний пример — «болезнь легионеров», обычно распространяющаяся через системы кондиционирования воздуха.

Долгое время люди страдали от инфекционных болезней и вместе с тем видели в них проявление божественного промысла. Первые письменные описания способов ограничения распространения бешенства имеют возраст более 3000 лет. Начиная с середины 1800-х гг. врачи и ученые изо всех сил пытались установить природу факторов, вызывающих инфекционные заболевания, собирательно названных **патогенами**. Позже, благодаря появлению генетики микроорганизмов и молекулярной клеточной биологии, наши знания о причинах и механизмах инфекционных болезней значительно приумножились. Теперь мы знаем, что для заражения своего хозяина патогены часто используют биологические свойства его клеток. Понимание этой особенности может помочь нам продвинуться вперед в постижении биологии нормальной клетки, а также открыть нашему взору новые стратегии лечения и предупреждения инфекционных заболеваний.

Как же хрупкому и медленно эволюционирующему человеку удастся выжить в мире, кишашем враждебными, едва различимыми и быстро эволюционирующими патогенами? Как и прочие многоклеточные организмы, мы развили в ходе эволюции несколько механизмов, помогающих нам сопротивляться заражению патогенами.

Во-первых, физические барьеры, такие как плотный кожный покров и сопряженные с ним средства химической защиты (например, соляная кислота в желудке), препятствуют проникновению большинства микроорганизмов (микробов) в стерильные ткани нашего организма. Во-вторых, сами клетки человека обладают некоторыми внутренними защитными свойствами; например, клетки активно осуществляют деградацию двунитевых молекул РНК, которые служат отличительным признаком некоторых видов вирусных инфекций. Чтобы бороться с особенно сильными патогенами, которые преодолевают эти препятствия, позвоночные используют иммунную защиту двух типов, осуществляемую специализированными белками и клетками: **реакции врожденного иммунитета** запускаются незамедлительно после начала заражения и не зависят от ранее полученного опыта общения хозяина с этим патогеном, в то время как более мощные **реакции приобретенного иммунитета** включаются на более поздних этапах заражения и крайне специфичны к вызвавшему их патогену.

Эту главу мы начнем с краткого обзора разных видов вызывающих болезни организмов. Затем мы обсудим инфекцию с точки зрения клеточной биологии и, наконец, рассмотрим барьеры, что стоят на ее пути, и систему врожденного иммунитета. Приобретенный иммунитет станет предметом обсуждения главы 25.

24.1. Знакомство с патогенами

Обычно мы воспринимаем патогены как вражеских захватчиков, которые нападают на наш организм. Но, как и всякий живой организм, патоген попросту исполняет свое биологическое предназначение — жить и порождать потомство. Проживание за счет организма хозяина — очень эффективная стратегия, и вполне возможно, что все живущие на Земле организмы подвержены тем или иным видам инфекций (рис. 24.1). Человек в качестве организма-хозяина — это богатая питанием, теплая и влажная среда, в которой поддерживается оптимальная для жизни температура и которая постоянно обновляется. Поэтому совсем неудивительно, что многие микроорганизмы развили в себе способность жить и воспроизводиться в этой благоприятной нише. В этом параграфе мы обсудим некоторые общие особенности, придающие микроорганизмам способность заражать хозяев. Затем мы рассмотрим весь спектр организмов, о которых известно, что они вызывают болезни человека.

24.1.1. Патогены развили специфические механизмы для взаимодействия со своими хозяевами

Организм человека — сложная и процветающая экосистема. Он состоит примерно из 10^{13} клеток и вдобавок содержит в себе около 10^{14} клеток бактерий, грибов и простейших, представляющих собой многие тысячи видов микробов. Эти симбиотические микробы, называемые **нормальной микрофлорой**, обычно сосредоточены в некоторых областях организма, таких как кожа, рот, толстый кишечник и влагалище. Нормальная микрофлора не только представляет собой «коренных обитателей» экосистемы человеческого организма, но и влияет на наше здоровье. Населяющие наш кишечник анаэробные бактерии вносят вклад в переваривание пищи и нужны также для надлежащего развития желудочно-кишечного тракта у младенцев. Наряду с этим, нормальная микрофлора на коже и во всех остальных местах организма конкурирует с болезнетворными микроорганизмами, тем самым охраняя нас от их агрессии. Более того, люди всегда заражены вирусами, причем присутствие подавляющего большинства из них редко становится ощутимым.

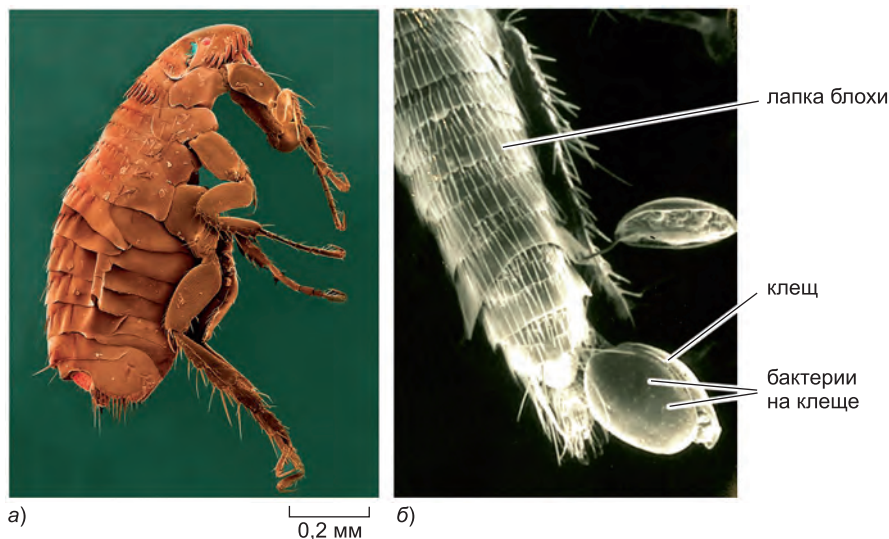


Рис. 24.1. Паразитизм на многих уровнях. а) Снимок блохи, полученный с помощью сканирующего электронного микроскопа. Блоха — распространенный паразит млекопитающих: собак, кошек, крыс и людей. Она пьет кровь своего хозяина. Блохи распространяют бубонную чуму, перенося болезнетворную бактерию *Yersinia pestis* из кровотока зараженного хозяина в кровоток другого хозяина. б) На снятой крупным планом фотографии блошиной лапки видно, что на ней также есть паразит — одна из разновидностей клещей. Клещ, в свою очередь, покрыт бактериями. Весьма вероятно, что на этих бактериях паразитируют *бактериофаги*, представляющие собой вирусы бактерий.

О подобном наблюдении в 1733 г. рассказал Джонатан Свифт:

Гоббс доказал: везде война!
 Тебя кусает под одежкой
 Блоха, а в свой черед она
 Укушена мельчайшей блошкой.
 На меньшей меньшая сидит,
 И все идет *ad infinitum*¹.
 Так и значительный пиит
 Искусан маленьким пиитом².

(Снимок а любезно предоставлен Tina Carvalho/MicroAngela; фото б великодушно предоставлено Stanley Falkow.)

Если нас устраивает столь тесное сожительство с огромным разнообразием микробов, то почему же некоторые из них время от времени возбуждают у нас заболевания или даже становятся причиной смерти? Как мы увидим, на этот вопрос есть несколько ответов, и способность того или иного микроорганизма наносить очевидный ущерб здоровью хозяина может в большой степени зависеть от внешних влияний. **Первичные патогены**, которые у большинства здоровых людей могут в явном виде вызвать болезнь, обычно отличаются от нормальной микрофлоры. В отличие от симбиотических организмов, они способны прорывать физические барьеры и выживать в таких местах организма хозяина, которые для других микроорганизмов недосягаемы. В норме живущие в нас микробы причиняют не-

¹ До бесконечности (лат.). — Прим. В.Е.Васильева.

² Перевод В.Е.Васильева (эпиграмма «Блошинные блохи»). — Прим. перев.

приятности только тогда, когда наша иммунная система ослабевает или когда они получают доступ к обычно стерильным тканям организма, как бывает, скажем, при прободении кишечника, когда кишечная микрофлора выходит в брюшную полость живота и становится причиной *перитонита*; иногда они становятся причиной болезни из-за того, что наша иммунная реакция на них оказывается слишком уж сильной. Для первичных патогенов, напротив, не обязательно, чтобы хозяин был с ослабленным иммунитетом или ослабевший от ран. Первичные патогены развили высокоспециализированные механизмы для того, чтобы преодолевать клеточные и биохимические барьеры, и для того, чтобы вызывать в организме хозяина определенные реакции, способствующие успешному выживанию и размножению патогена. У одних патогенов эти механизмы приспособлены к хозяину какого-либо одного вида, тогда как у других они достаточно универсальны, так что такой патоген может вселяться в организм целого диапазона хозяев, благополучно жить там и размножаться.

Некоторые патогены возбуждают острые эпидемические заболевания и вынуждены быстро распространяться от одного больного или умирающего хозяина к другому; исторически значимые примеры — бубонная чума и оспа. Другие вызывают хронические заболевания, которые могут тлеть в индивидууме годами, не разгораясь до явной болезни; примерами служат вирус Эпштейна—Барр (который у некоторых людей может вызвать моноклеоз — серьезное гриппоподобное заболевание), бактерия *Mycobacterium tuberculosis* (которая может стать причиной опасного для жизни туберкулеза легкого) и кишечный червь *Ascaris*. Хотя каждый такой патоген у некоторых людей может вызвать тяжелую форму болезни, миллиарды людей являются их бессимптомными носителями и в большинстве случаев даже не подозревают, что заражены ими. Границу между хронической инфекцией и комменсализмом провести нелегко. На всем протяжении этой главы мы будем познавать разнообразие патогенов и инфекций, но в то же время сосредоточимся на общих для всех них принципах клеточной биологии.

Чтобы успешно жить и размножаться в организме хозяина, патоген должен быть способен: 1) колонизировать хозяина; 2) найти в организме хозяина нишу с подходящей питательной средой; 3) избежать, подорвать или перехитрить возбуждаемые хозяином реакции врожденного и приобретенного иммунитета; 4) размножиться, используя ресурсы хозяина; 5) выйти во внешний мир и перейти к новому хозяину. Под жестким давлением естественного отбора для возбуждения у хозяина реакций, помогающих им выполнять эти задачи, патогены развили в себе механизмы, основанные на максимальном использовании биологических свойств хозяев. Поэтому многие патогены, образно говоря, можно назвать умелыми и опытными клеточными биологами, и, наблюдая за их поведением, мы можем узнать многое из области клеточной биологии.

В то же время постоянная подверженность нападкам со стороны патогенов сильно повлияла на эволюцию человека. Развитие у позвоночных животных обладающей высокой точностью системы приобретенного иммунитета, что обсуждается в главе 25, было важным скачком в гонке вооружений, всегда существовавшей между патогенами и их хозяевами. В наше время люди повысили планку, преднамеренно изменив свое поведение так, что у патогенов осталось гораздо меньше возможностей заражать нас. Усовершенствования системы общественного здравоохранения, в том числе сооружение исправно работающей канализации и водопровода, внесли немалый вклад в постепенное снижение уровня общей смертности по причине ин-

фекционных заболеваний за несколько последних столетий. Государства, которые направили ресурсы на улучшение детского питания, добились улучшения общего состояния здоровья населения, включая заметно снизившиеся показатели смертности от инфекционных болезней в раннем детском возрасте. Медицинские программы, такие как всеобщая вакцинация населения, противомикробные средства и обычная проверка крови перед использованием ее для переливания, также существенно уменьшили бремя инфекционных болезней для многих людей. По мере того как мы все больше узнаем о механизмах, которыми патогены вызывают заболевания (патогенез), наши умы становятся все более весомым дополнением к системам иммунитета в борьбе с инфекционными болезнями.

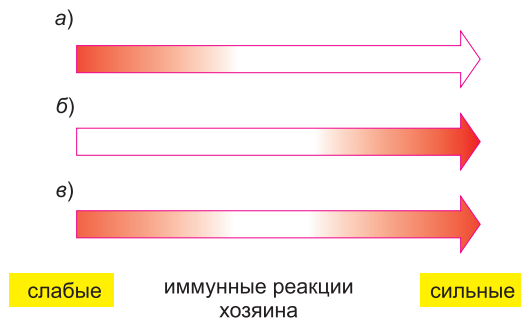
24.1.2. Признаки и симптомы инфекции могут быть вызваны либо самим патогеном, либо иммунными реакциями хозяина

Хотя нам легко понять, почему возбудители инфекции эволюционировали так, чтобы воспроизводиться в хозяине, причина, по которой они это сделали, чтобы возбуждать болезнь, то есть причинять вред своим хозяевам, видится с трудом. Одним из объяснений может служить то, что в некоторых случаях патологические реакции, вызываемые микроорганизмами, повышают эффективность их распространения или расселения и, следовательно, придают им явные преимущества в естественном отборе. Например, вирус-содержащие повреждения или образования на гениталиях при заражении *простым герпесом* облегчают прямое распространение этого вируса от зараженного хозяина к незараженному партнеру во время полового контакта. Точно так же инфекции, сопровождающиеся диареей, эффективно распространяются от пациента к ухаживающей за ним сиделке. Однако во многих случаях обострение болезни не дает патогену никакого очевидного преимущества. Некоторые реакции хозяина на инфекцию, такие как вялость или социальная самоизоляция, казалось бы, напротив, тормозят распространение патогена. Зараженные люди из альтруистических побуждений могут стараться избегать возможности заражения своих друзей и членов семьи, а здоровые люди могут тоже сознательно уклоняться от общения с больным; подобное поведение, между прочим, было зарегистрировано также и у лангустов. Оно может отражать адаптивные реакции, прошедшие естественный отбор в популяциях хозяев, обычно живущих группами.

Многие симптомы и признаки, которые мы связываем с инфекционным заболеванием, на самом деле являются прямыми проявлениями иммунных реакций хозяина. Некоторые характерные признаки, наблюдаемые в очагах бактериальной инфекции, включая опухание, покраснение и образование гноя (который в основном состоит из мертвых белых клеток крови), проистекают из того, что клетки иммунной системы пытаются уничтожить вторгшиеся микроорганизмы. Жар — это тоже защитная реакция, поскольку повышение температуры тела может ингибировать пролиферацию некоторых микроорганизмов. В крайних случаях самые серьезные и разрушительные последствия инфекционного заболевания непосредственно обусловлены слишком сильной иммунной реакцией: примером служит масштабное разрушение тканей, наблюдаемое в случаях лейшманиоза (инфекция, вызываемая патогенами-эукариотами из рода *Leishmania*). Таким образом, для понимания биологии инфекционной болезни требуется оценка вклада в развитие недомогания и со стороны патогена, и со стороны хозяина.

Чтобы оценить относительный вклад возбудителя инфекции и хозяина в порождение признаков и симптомов заболевания, полезно рассмотреть причину и степень поражения тканей хозяина во время заражения. Каждое взаимодействие между определенным микроорганизмом и определенным хозяином уникально, и исход его зависит от постоянно изменяющейся картины микробной активности и противодействия иммунной системы хозяина. Степень причиненного хозяину вреда зависит от взаимодействия этих факторов. В некоторых случаях один и тот же микроорганизм может быть безвредным или даже полезным симбионтом у большинства людей большую часть их жизни, но у людей с ослабленной иммунной системой вызывать инфекционное заболевание; например, это верно для распространенного обитателя кожи *Staphylococcus epidermidis* (рис. 24.2, а). Другие микроорганизмы, такие как вирус, вызывающий паротит, наносят серьезный вред только в случае сильных иммунных реакций (рис. 24.2, б). Очень интересная категория, хорошо отражающая большое значение взаимодействий между факторами хозяина и микроба в нанесении вреда здоровью, представлена многочисленными патогенами, которые вызывают тяжелые заболевания у людей с очень слабыми или очень сильными иммунными реакциями, но не наносят никакого вреда (а если и наносят, то в слабой форме) людям с иммунными реакциями средней силы (рис. 24.2, в). Превосходный пример — туберкулез, которым в настоящее время заражено от 1 до 2 миллиардов человек на Земле (обычно это туберкулез легких), хотя большинство даже не знает об этом, потому что их иммунная система эффективно сдерживает инфекцию. Однако, когда у человека с такой скрытой инфекцией *M. tuberculosis* иммунитет подавляется — например, из-за лекарственной терапии или заражения вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), — тонкое равновесие между бактерией и иммунной системой смещается в пользу бактерии, которая начинает безудержно размножаться и вызывает серьезное заболевание, часто сопровождающееся болезненным кашлем с кровавистой мокротой. И наоборот, чрезмерно мощная иммунная реакция на *M. tuberculosis* может уничтожить значительное количество ткани легкого.

Рис. 24.2. Взаимодействие между микробами и иммунными реакциями в ходе микробного патогенеза. Сила иммунных реакций увеличивается в направлении стрелок, в то время как степень поражения хозяина обозначена интенсивностью красной заливки этих стрелок. а) Представители нормальной микрофлоры, такие как бактерии *Staphylococcus epidermidis* и грибы *Pneumocystis carinii*, вызывают заболевания только в том случае, если иммунная система ослабевает. б) В случае некоторых патогенов, таких как парамиксовирус, который вызывает паротит, и бактерия *Chlamydia trachomatis*, которая вызывает одно из самых распространенных заболеваний, передающихся половым путем, за поражение тканей главным образом отвечают именно иммунные реакции, а не сам возбудитель. в) В случае многих других патогенов, колонизация хозяина с нормальным иммунитетом может протекать бессимптомно, но хозяину с очень сильным иммунитетом может быть нанесен серьезный или даже смертельный вред. Многие микроорганизмы ведут себя именно так, в том числе бактерия *Mycobacterium tuberculosis*, гриб *Aspergillus* и вирус простого герпеса.



24.1.3. Патогены филогенетически разнообразны

Болезни человека вызываются патогенами многих типов. Наиболее известные среди них — вирусы и бактерии. Вирусные инфекции становятся причиной болезней от СПИДа и оспы до обыкновенного насморка. По сути, это фрагменты нуклеиновых кислот (ДНК или РНК), кодирующие относительно небольшое число продуктов генов и окруженные защитной белковой оболочкой, а в некоторых случаях еще и мембраной (рис. 24.3, а). Они совершенно неспособны к самостоятельной метаболической активности и поэтому всецело зависят от метаболической энергии, вырабатываемой хозяином. Все они используют для своей репликации основной аппарат белкового синтеза клеток хозяина, а многие из них полагаются на клетки хозяина также и в отношении процессов транскрипции.

Из всех бактерий, с которыми мы встречаемся в нашей жизни, лишь малая доля относится к первичным патогенам. Будучи намного крупнее и сложнее вирусов, бактерии обычно представляют собой свободно живущие клетки, которые сами выполняют большинство своих основных метаболических функций, полагаясь на хозяина преимущественно в вопросах питания (рис. 24.3, б).

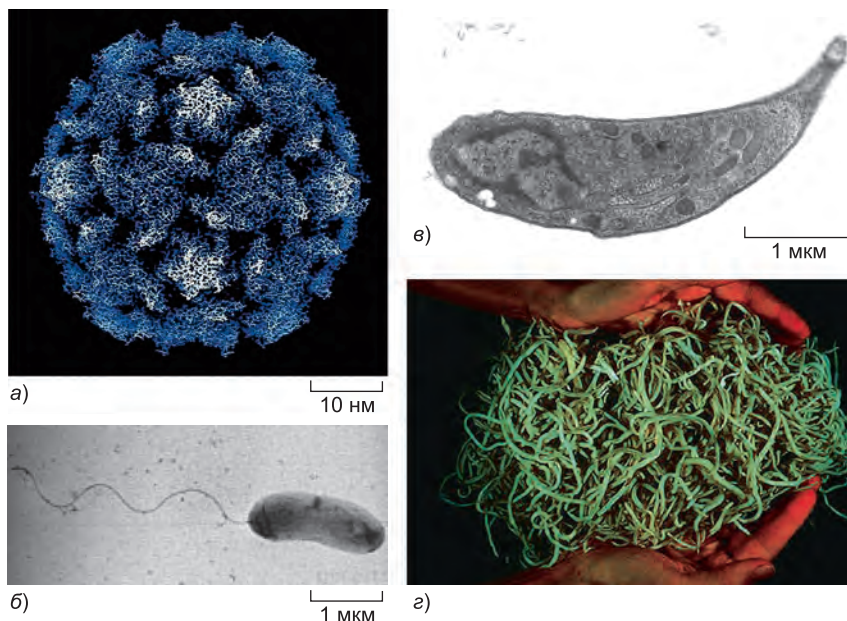


Рис. 24.3. Многоликий мир патогенов. а) Структура белковой оболочки (капсида) полиовируса. В свое время этот вирус был частой причиной паралича, но благодаря массовой вакцинации населения болезнь (полиомиелит) почти полностью искоренена. б) Бактерия *Vibrio cholerae* — возбудитель эпидемической острой кишечной инфекции, холеры. в) Простейшее-паразит *Toxoplasma gondii*. Окончательный хозяин для этого организма — кошачьи в размерном диапазоне от домашней кошки до тигра, но он может вызвать серьезное заражение мышц и головного мозга людей с ослабленным иммунитетом (в частности, страдающих СПИДом). г) Этот клубок нематод *Ascaris* удален из ставшего почти полностью непроходимым кишечника двухлетнего мальчика. (Снимок а любезно предоставлен Robert Grant, Stephan Crainic и James M. Hogle; фото б: нами предприняты все попытки связаться с обладателем авторских прав, и мы были бы рады получить от них весточку; изображение в любезно прислано John Boothroyd и David Ferguson; иллюстрация г взята из J. K. Baird et al., *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 35: 314–318, 1986. Фотография Daniel H. Connor.)

Некоторые другие возбудители являются эукариотическими организмами. Их многообразие простирается от одноклеточных грибов и простейших (рис. 24.3, в) до крупных и сложных многоклеточных, таких как паразитические черви. Одно из самых распространенных инфекционных заболеваний на планете, охватившее к настоящему времени около миллиарда людей, — инвазия кишечника нематодой *Ascaris lumbricoides*. По своему строению аскарида имеет много общего со своим родственником *Caenorhabditis elegans*, который широко используется в качестве модельного организма для исследований в области генетики и биологии развития (мы говорили об этом в главе 22). Однако *C. elegans* имеет длину лишь около 1 мм, тогда как *Ascaris* может достигать 30 см в длину (рис. 24.3, г).

Некоторые редкие нейродегенеративные заболевания, такие как губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота, обусловлены инфекционной частицей необычного типа — так называемым *прионом*, который состоит исключительно из белка. Хотя у приона нет никакого генома, он тем не менее способен размножаться и убивать хозяина.

Даже в пределах того или иного класса патогенов имеет место поразительное разнообразие форм. Вирусы чрезвычайно различаются по размерам, форме и содержанию (ДНК- или РНК-вирусы, с оболочкой или без и так далее), и то же самое верно для всех остальных патогенов. Способность вызывать болезнь — это эволюционная ниша, а не наследие, общее лишь для близких родственников.

Каждый отдельно взятый патоген вызывает болезнь индивидуальным образом, и один и тот же патоген может стать причиной различных заболеваний у разных хозяев, что значительно затрудняет задачу понимания биологических основ заражения. Однако при рассмотрении взаимодействий возбудителей со своими хозяевами все же начинают проследиваться некоторые общие черты патогенеза, которым преимущественно и будет посвящена эта глава.

Теперь мы познакомим читателя с основными особенностями патогенов всех основных типов, после чего разберем механизмы, которые патогены используют для управления своими хозяевами, и реакции врожденного иммунитета, которые хозяин использует для управления патогенами.

24.1.4. У бактериальных патогенов есть специализированные гены вирулентности

Бактерии малы и на вид устроены довольно просто. Большинство из них может быть довольно грубо классифицировано по форме — как палочковидные, шарообразные и спиральные (рис. 24.4, а) — и по так называемым свойствам **окрашивания по Граму** (рис. 24.4, б и в). Сравнительно небольшой размер бактерий и нехитрый диапазон их форм, казалось бы, противоречит их чрезвычайному разнообразию в молекулярном, метаболическом и экологическом отношениях. На молекулярном уровне бактерии намного разнообразнее эукариот и могут успешно занимать экологические ниши с экстремальными значениями температуры, концентрации солей и содержания питательных веществ, которые отпугнули бы и самого неустрашимого эукариота. Хотя бактерии не отличаются богатым морфологическим разнообразием, присущим клеткам эукариот, они являют нам удивительное множество поверхностных структур, которые позволяют им плавать или прикрепляться к желаемым поверхностям (рис. 24.4, г). Как и сами бактерии, их геномы малы и обычно находятся в размерном диапазоне от 1 000 000 до 5 000 000 п. н. (по сравнению с 12 000 000 у дрожжей и более 3 000 000 000 у человека).

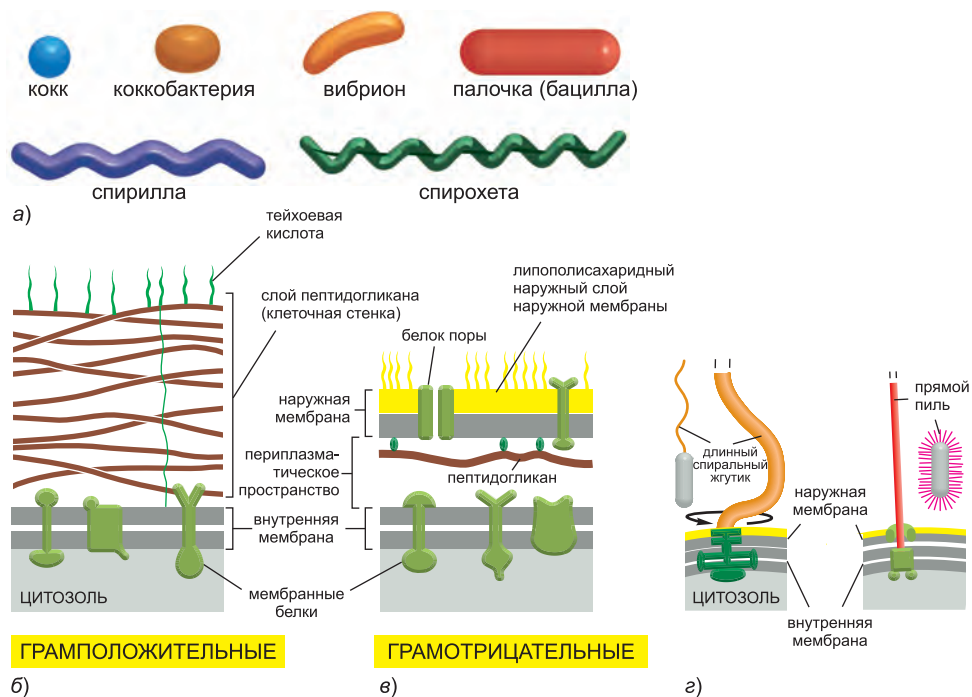


Рис. 24.4. Формы бактерий и структуры клеточной поверхности. а) Бактерии классифицируют по форме. б и в) Их подразделяют также на *грамположительные* и *грамотрицательные*. б) Бактерии, такие как *Streptococcus* и *Staphylococcus*, имеют одинарную мембрану и толстую клеточную стенку, образованную поперечно сшитым *пептидогликаном*. Они удерживают фиолетовый краситель, применяемый в процедуре окрашивания по Граму, и поэтому называются *грамположительными*. в) *Грамотрицательные* бактерии, такие как *Escherichia coli* (*E. coli*) и *Salmonella*, имеют две мембраны, разделенные *периплазматическим пространством* (см. рис. 11.18). Слой пептидогликана клеточной стенки этих организмов расположен в периплазматическом пространстве и тоньше, чем у *грамположительных* бактерий; поэтому в процедуре окрашивания по Граму они не могут удерживать краситель. Внутренняя мембрана *грамотрицательных* бактерий представлена фосфолипидным бислоем, внутренний слой наружной мембраны также состоит преимущественно из фосфолипидов; однако внешний слой наружной мембраны состоит из уникального гликозилированного липида, называемого *липополисахаридом* (*LPS, lipopolysaccharide*) (см. рис. 24.47). г) Структуры клеточной поверхности важны для характерного для этих бактерий образа жизни. Многие бактерии плавают, используя вращение спиральных жгутиков (см. рис. 15.71). У представленной на рисунке бактерии один жгутик на одном полюсе; другие бактерии, такие как *E. coli*, имеют многочисленные жгутики. Прямые *пили* (называемые также *фимбриями*) используются для прикрепления к различным поверхностям в (на) теле хозяина, а также для осуществления обмена генетическим материалом между бактериями. Пили некоторых типов могут втягиваться, чтобы развивать усилие, и тем самым помогать бактерии передвигаться по поверхности. И жгутики, и пили закреплены на поверхности клетки при помощи крупных многобелковых комплексов.

Как мы уже подчеркивали ранее, вызывать у человека инфекционные заболевания способны бактерии лишь ограниченного числа видов. Некоторые из них могут реплицироваться только в теле своего хозяина и называются *облигатными патогенами*. Другие реплицируются в таких экологических нишах, как вода или почва, и становятся причиной болезни только в том случае, если им случится встретить восприимчивого хозяина; их называют *факультативными патогенами*. Многие

бактерии в обычных условиях безвредны, но таят в себе способность возбуждать болезнь у ослабленного ранением или обладающего ослабленным иммунитетом хозяина; их называют *условными патогенами*. Как мы смогли понять из прочитанного выше, возбудит ли данная бактерия болезнь в организме данного хозяина или нет, зависит от целого ряда различных факторов, среди которых — общее состояние здоровья хозяина; к примеру, у людей, больных СПИДом, серьезные инфекции могут быть вызваны многими представителями нормальной микрофлоры.

Если одни бактериальные патогены проявляют крайнюю разборчивость при выборе хозяина и заражают только один вид или же группу родственных видов, то другие — универсалы. Например, *Shigella flexneri*, которая вызывает эпидемическую дизентерию (геморрагический понос) в тех областях земного шара, где недостает чистой воды, заражает только человека и прочих приматов. А близкородственная ей бактерия *Salmonella enterica*, которая обычно бывает причиной пищевого отравления у людей, напротив, может заразить также и многих других позвоночных животных, в том числе кур и черепах. Чемпион среди универсалов — условный патоген *Pseudomonas aeruginosa*, который способен возбуждать заболевания не только у животных, но даже у растений.

Существенные различия между вирулентной болезнетворной бактерией и ее ближайшим непатогенным родственником обусловлены сравнительно небольшим числом генов. Гены, которые вносят вклад в способность организма возбуждать заболевание, называют **генами вирулентности**, а кодируемые ими белки — **факторами вирулентности**. Часто гены вирулентности группируются в кластеры — или в группы на бактериальной хромосоме, называемые *островками патогенности*, или во внехромосомные *плазмиды вирулентности* (рис. 24.5). Кроме этого, такие гены могут также переноситься мобильными *бактериофагами* (вирусами бактерий). Поэтому кажется вполне очевидным, что новый патоген может появиться на свет, если группы генов вирулентности будут совместно перенесены в изначально неvirulentную бактерию. По мере увеличения числа полностью секвенированных геномов болезнетворных и неболезнетворных бактерий становится ясно, что эволюции бактерий во многом способствовали приобретение протяженных фрагментов ДНК и другие макроскопические хромосомные изменения, позволившие бактериям не только воз-

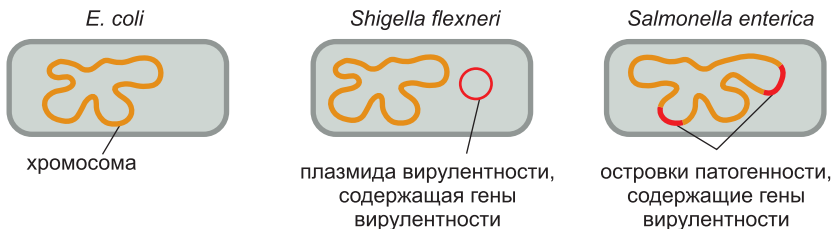


Рис. 24.5. Генетические различия между патогенными и непатогенными бактериями. У непатогенной *E. coli* одна кольцевая хромосома. *E. coli* состоит в очень близком родстве с пищевыми патогенами двух видов: *Shigella flexneri*, которая вызывает дизентерию, и *Salmonella enterica*, которая обычно бывает причиной пищевых отравлений. Если бы эти три организма классифицировали на основании данных молекулярной биологии, то их бы отнесли к одному роду, а может быть, даже и к одному виду. Хромосома *S. flexneri* отличается от таковой *E. coli* лишь в нескольких локусах; большинство генов, необходимых для патогенеза (гены вирулентности), находятся на внехромосомной плазмиде. Хромосома *S. enterica* несет две большие вставки (островки патогенности), не обнаруженные в хромосоме *E. coli*; в каждой из этих вставок содержится большое число генов вирулентности.

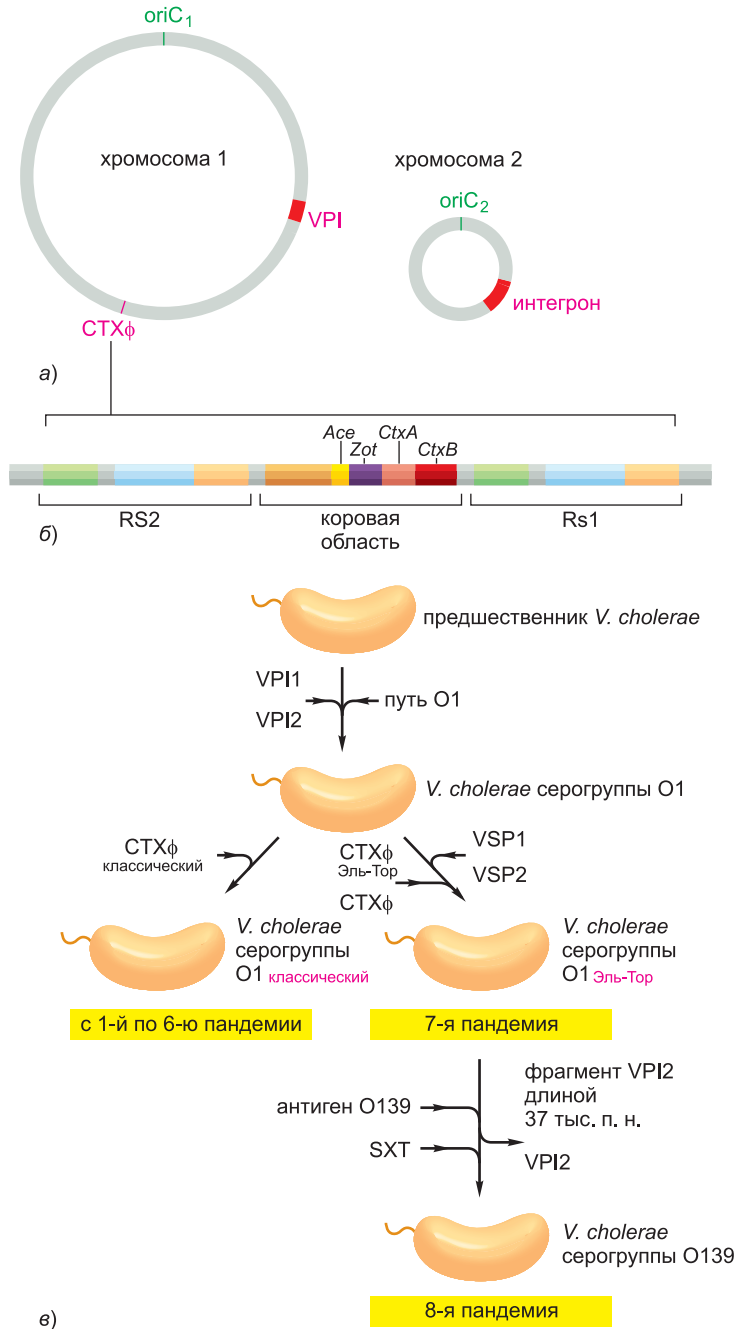


Рис. 24.6. Генетическая организация *Vibrio cholerae*. Электронная микрофотография *Vibrio cholerae* (*V. cholerae*) представлена на рис. 24.3, б. а) Эта бактерия необычна наличием не одной, а двух кольцевых хромосом. Обе хромосомы имеют свои собственные точки начала репликации (oriC₁ и oriC₂). У патогенных штаммов *V. cholerae* есть три локуса, которые отсутствуют у непатогенных штаммов, скорее всего, они были приобретены относительно недавно. Локус CTXφ на хромосоме 1 — это встроенный геном бактериофага, который содержит гены, кодирующие холерный токсин. Островок патогенности VPI на хромосоме 1

буждать заболевания, но и заселять новые экологические и пищевые ниши. Даже в пределах одного вида бактерий количество хромосомных вариаций поражает; разные штаммы *E. coli* могут отличаться своими геномами вплоть до 25%.

Приобретение генов и групп генов может способствовать быстрому эволюционированию патогенов и обращать неболезнетворные по своей природе организмы в патогены. Рассмотрим, к примеру, *Vibrio cholerae* — граммотрицательную бактерию, которая вызывает эпидемическую острую кишечную инфекцию холеру. Гены, кодирующие две субъединицы токсина, который вызывает диарею, переносятся мобильным бактериофагом (рис. 24.6, а и б). Из сотен штаммов *Vibrio cholerae*, в диком виде встречающихся в озерах, те немногие, что вызывают болезнь человека в пандемическом масштабе, в свою очередь, заражены этим вирусом бактерий. Как видно из рис. 24.6, в, начиная с 1817 г. по земле прокатилось восемь пандемий *V. cholerae*. Причиной первых шести были возникшие в результате периодических перерождений возбудителя, но весьма схожие между собой штаммы возбудителя, названные классическими штаммами. Помимо токсинов, кодируемых бактериофагом и островками патогенности, классические штаммы объединяет между собой наличие однотипного первичного углеводного поверхностного антигена, названного O1-антиген, который является частью липополисахарида, образующего внешний слой наружной мембраны (см. рис. 25.4, в). В 1961 г. началась седьмая пандемия, вызванная новым штаммом (получившим название Эль-Тор, El Tor), который заметно отличался от классических штаммов и, по-видимому, возник, когда экспрессирующий O1-антиген штамм в естественных условиях вобрал в себя два бактериофага, а также по крайней мере два новых островка патогенности, которых не было в классических штаммах. В конечном счете Эль-Тор вытеснил классические штаммы по всему миру. В 1991 г. вспыхнула восьмая пандемия, в этот раз с пугающей характерной особенностью: люди, уже переболевшие холерой, не имели

включает в себя гены, кодирующие факторы, необходимые для колонизации кишечника. Интегрон на хромосоме 2 способствует встраиванию недавно приобретенных фрагментов ДНК в геном так, чтобы они находились под контролем сильного транскрипционного промотора, и тем самым содействует последовательному приобретению новых генов. Хотя для *V. cholerae* еще не была показана необходимость этого интегрона *V. cholerae* для вирулентности, у многих других патогенов подобные интегроны содержат гены вирулентности, а также гены, обеспечивающие устойчивость к антибиотикам. б) Карта локуса СТХф. Гены *CtxA* и *CtxB* кодируют две субъединицы холерного токсина. Другие гены в **коровой** области (*Ace* и *Zot*) также отвечают за вирулентность. Фланкирующие повторы RS2 и RS1 участвовали во встраивании генома бактериофага в хромосому 1. в) Модель эволюции патогенных штаммов *V. cholerae*, построенная на основе данных, полученных с помощью методов сравнительной геномики. Предковые штаммы в естественных условиях сначала приобрели биосинтетический путь метаболизма, необходимый для синтеза углеводной цепи, характерной для O1-антигена, на липополисахариде внешней мембраны (см. рис. 24.4, в и 24.47), и, возможно, также вобрал в себя один или два островка патогенности *Vibrio* (VPI1 и VPI2). За счет включения бактериофага СТХф в геном образованы классические патогенные штаммы — виновники первых шести эпидемий холеры, прокатившихся по всему миру в период с 1817 года по 1923 год. В XX веке обитающий в окружающей среде штамм O1 снова вобрал в себя бактериофаг СТХф, но уже наряду с сопутствующим бактериофагом RS1ф и двумя новыми островками патогенности (VSP1 и VSP2), и образовал штамм Эль-Тор, явивший себя миру в виде седьмой пандемии 1961-го года. До 1991-го года штамм Эль-Тор успел вобрать в свой геном новую кассету ДНК, позволившую ему, вместо антигена O1, вырабатывать углеводную цепь, характерную для O139-антигена. Это привело к изменениям во взаимодействии этого патогена с иммунной системой человека, придавая ему новые свойства, при этом ничуть не умерив его вирулентность, и дало начало восьмой пандемии; кроме того, эта бактерия обзавелась новым островком патогенности (SXT) и утеряла большую часть островка VPI2.

**может
уда-
рение
поста-
вить?**

к ней иммунитета, поскольку у нового штамма был О-антиген другого типа, в силу чего антитела анти-О1, имевшиеся в крови перенесших предыдущую эпидемию холеры, оказались неэффективными против нового штамма. В остальном новый штамм был весьма схож со штаммом Эль-Тор; очевидно, он попросту вобрал в себя новую кассету для синтеза О-антигена иного типа.

Что это за гены, которые позволяют бактерии стать причиной болезни здорового хозяина? Многие гены вирулентности кодируют белки, непосредственно взаимодействующие с клетками хозяина. Два гена, переносимых фагом вируса *Vibrio cholerae*, например, кодируют две субъединицы **холерного токсина** (см. рис. 24.6, б). В-субъединица этого секретируемого токсичного белка связывается с гликолипидным компонентом плазматической мембраны эпителиальных клеток в кишечнике человека, в организм которого *Vibrio cholerae* попал вместе с загрязненной водой. В-субъединица переносит А-субъединицу через плазматическую мембрану в цитоплазму эпителиальной клетки. А-субъединица представляет собой фермент, катализирующий перенос ADP-рибозной функциональной группы от NAD^+ к тримерному G-белку G_s , который в норме активирует производство циклического АМР аденилатциклазой (мы говорили об этом в главе 15). ADP-рибозилирование G-белка приводит к чрезмерному накоплению циклического АМР и нарушению ионного баланса, которое становится причиной изнурительного водянистого стула, сопутствующего холере. Благодаря этому инфекция распространяется к новым хозяевам фекально-оральным путем через загрязненную пищу и воду.

Некоторые болезнетворные бактерии используют сразу несколько независимых способов токсического воздействия на клетки своего хозяина, *сибирская язва*, например, — острое инфекционное заболевание овец, крупного рогатого скота и прочих травоядных, в редких случаях — человека. Обычно заражение происходит через контакт со спорами грамположительной бактерии *Bacillus anthracis*. В отличие от возбудителя холеры, возбудитель сибирской язвы не передается напрямую от человека к человеку. Будучи чрезвычайно устойчивыми к неблагоприятным условиям среды, таким как высокая температура, ультрафиолетовое и ионизирующее излучение, высокое давление и действие химических агентов, покоящиеся споры могут сохраняться в почве в течение длительного времени. После того как споры попадают в организм в результате вдыхания, проглатывания или через повреждения на коже, они прорастают, и бактерии начинают реплицироваться. Бактерии выделяют два токсина, названных **летальным токсином** и **отечным токсином**, одного из которых достаточно, чтобы вызвать симптомы заражения. Подобно холерному токсину, оба токсина сибирской язвы состоят из двух субъединиц. В-субъединица одинакова у обоих токсинов сибирской язвы, она связывается с рецепторным белком клеточной поверхности хозяина, чтобы перенести в клетки хозяина А-субъединицу, которая и определяет различие этих токсинов (рис. 24.7). А-субъединица отечного токсина — аденилатциклаза, которая непосредственно превращает АТФ клетки хозяина в циклический АМР, что ведет к нарушению ионного баланса, которое может стать причиной накопления внеклеточной жидкости (*отека*) в инфицированной коже или инфицированном легком. А-субъединица летального токсина — протеаза, которая расщепляет несколько белков членов семейства MAP-киназ (см. рис. 15.60). Инъекция летального токсина в кровоток животного вызывает шок (снижение артериального давления) и смерть. Молекулярные механизмы, приводящие к смерти при заболевании сибирской язвой, до сих пор неясны.

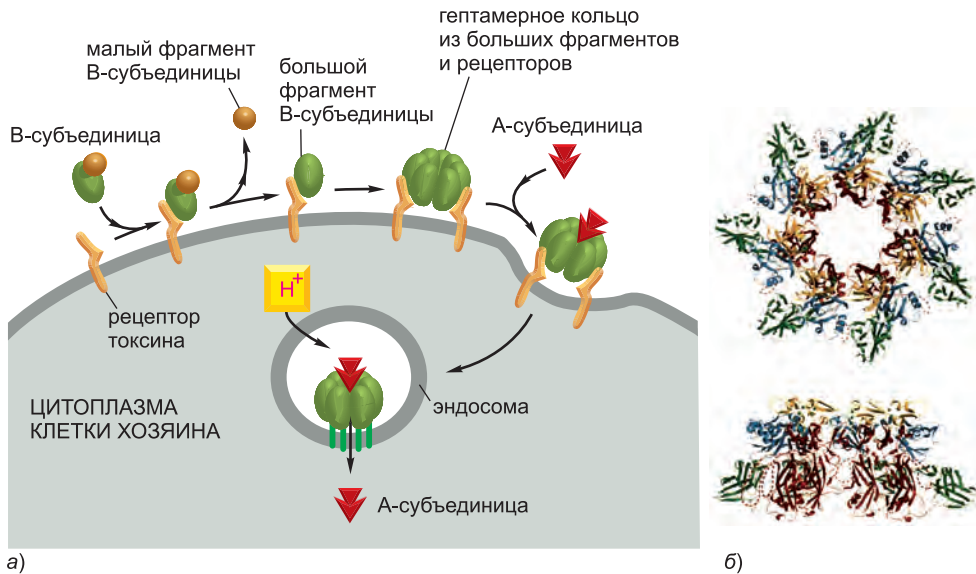


Рис. 24.7. Проникновение токсина сибирской язвы в клетки хозяина. а) В-субъединицы токсина образуют пору для переноса обладающей ферментативной активностью А-субъединицы в цитоплазму клеток хозяина. В-субъединица связывается с рецепторным белком на поверхности клетки хозяина и автокаталитически расщепляется с образованием малого растворимого фрагмента и большого фрагмента, который остается связанным с рецептором. Семь копий большого фрагмента и связанные с ними рецепторы объединяются на поверхности клетки и формируют гептамерное кольцо. Затем А-субъединица токсина связывается с гептамерным кольцом и подвергается вместе с ним эндоцитозу. Поскольку рН в эндосоме падает, кольцо претерпевает значительные конформационные изменения, в результате которых в мембране эндосомы образуется пора, и через нее в цитозоль клетки хозяина попадает А-субъединица. б) Выявленная рентгеноструктурным анализом структура гептамерного кольца из В-субъединиц, вид сверху и вид сбоку. (Снимки б взяты из С. Petosa et al., *Nature* 385:833–838, 1997, с любезного разрешения Macmillan Publishers Ltd.)

Эти примеры иллюстрируют общую особенность различных факторов вирулентности. Часто эти факторы представлены либо токсичными белками (*токсинами*), которые непосредственно взаимодействуют с важными для хозяина структурными белками, или белками внутриклеточной передачи сигналов с целью возбуждения в клетке хозяина такой реакции, которая была бы благоприятна для расселения или размножения патогена, либо же белками, необходимыми для доставки таких токсинов к соответствующим мишеням в клетке хозяина. Один распространенный и особенно эффективный механизм доставки, характерный для некоторых грамотрицательных патогенов и называемый **системой секреции III типа**, основан на введении (как будто крошечным шприцом) токсичных белков из цитоплазмы внеклеточной бактерии непосредственно в цитоплазму клетки хозяина (рис. 24.8). Эффекторные белки, доставляемые этими впрыскивающими устройствами в цитоплазму клетки хозяина, могут запустить целый ряд разнообразных реакций клетки хозяина, позволяющих бактерии поражать, распространяться и выживать. Между таким аппаратом секреции III типа и основанием жгутика бактерии имеет место необычайная степень структурного подобия (см. рис. 15.71), к тому же многие белки из этих двух структур гомологичны. Поскольку жгутики встречаются у более широкого

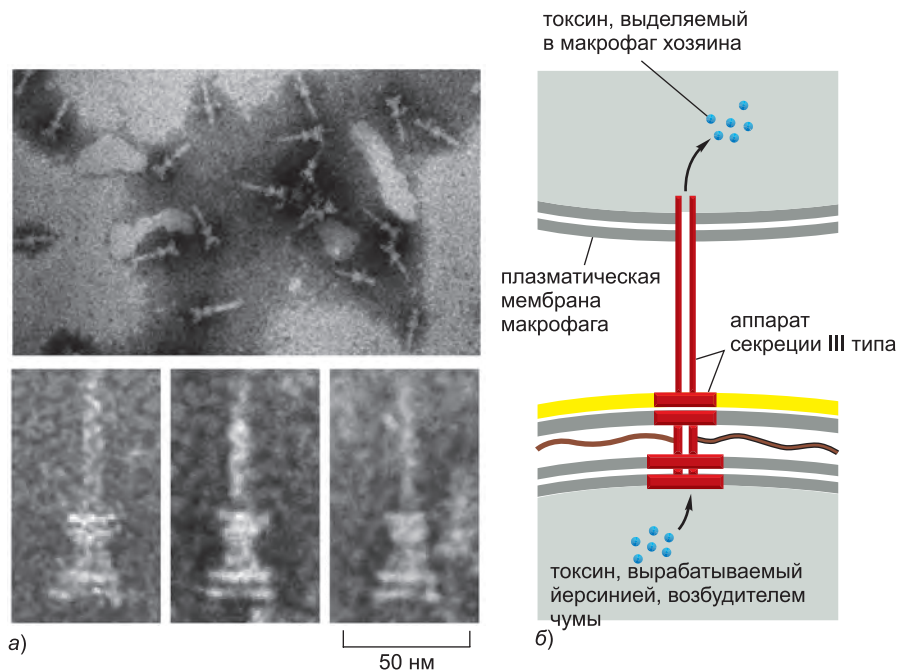


Рис. 24.8. Системы секреции III типа, которые могут доставлять факторы вирулентности в цитозоль клетки хозяина. а) Электронные микрофотографии выделенных систем секреции III типа. Вся структура, различимая на трех представленных снизу увеличенных электронных микрофотографиях, образована примерно двумя десятками белков. б) Большое нижнее кольцо закорено в плазматической мембране бактерии, а меньшее верхнее кольцо встроено в ее наружную мембрану. В процессе заражения происходит контакт кончика полой трубки с плазматической мембраной клетки хозяина, который запускает выделение секрета в клетку хозяина. На этой схеме возбудитель чумы *Yersinia pestis* доставляет токсины в макрофаг. (Снимки а) заимствованы из K. Tamano et al., *EMBO J.* 19: 3876–3887, 2000. С любезного разрешения Macmillan Publishers Ltd.)

диапазона бактерий, чем системы секреции III типа, и системы секреции, как видно, специально адаптированы для патогенеза, представляется весьма вероятным, что именно системы секреции III типа эволюционировали из жгутиков, а не наоборот. Другие типы присущих патогенам специализированных систем доставки токсинов, по-видимому, эволюционировали независимо от этой системы. Например, *системы секреции IV типа*, используемые некоторыми патогенами для доставки токсинов в цитоплазму клеток хозяина аналогичным характерному системе III типа образом, близкородственны структурам, участвующим в конъюгации (половым пилям), который многие бактерии используют для обмена генетическим материалом.

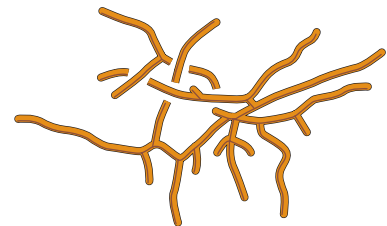
24.1.5. Паразиты, представленные грибами и простейшими, проходят сложные жизненные циклы, предполагающие смену многих форм

Болезнетворные грибы и паразитические простейшие — эукариоты. Поэтому лекарства, которые убивали бы их, не погубив при этом хозяина, найти гораздо труднее. Вследствие этого противогрибковые и противопаразитарные препараты

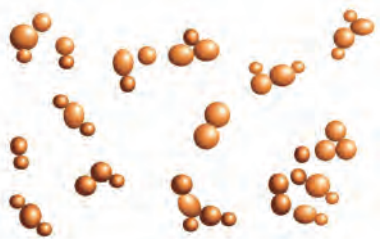
зачастую оказываются менее эффективными и более токсичными, чем антибиотики. Вторая особенность грибковых и паразитарных инфекций, ввиду которой с ними так трудно бороться, — общая предрасположенность патогенных организмов к переключению между несколькими разными формами в течение жизненного цикла. Препарат, который эффективно убивает одну форму патогена, нередко оказывается неэффективным для умерщвления другой его формы, облекшись в которую паразит легко переносит лечение.

К царству **грибов** надцарства эукариот относятся как одноклеточные *дрожжи* (такие как *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*), так и мицелиальные многоклеточные *плесневые грибы* (мы их нередко видим на заплесневелых плодах или хлебе). Большинство существенных для нас болезнетворных грибов проявляет *диморфизм* — способность давать две формы роста — дрожжеподобный или мицелиальный. Переключение с дрожжеподобной формы роста на мицелиальную или с мицелиальной на дрожжеподобную зачастую ассоциировано с заражением. Например, гриб *Histoplasma capsulatum* при низкой температуре в почве растет в виде плесени, но переключается на дрожжеподобную форму роста при попадании в легкие, где он может стать причиной заболевания гистоплазмоза (рис. 24.9).

Паразитические простейшие — одноклеточные эукариоты с более сложным, чем у грибов, жизненным циклом, а потому им зачастую необходим не один, а несколько хозяев. **Малярия** — самое распространенное протозойное заболевание, которым ежегодно заболевают 200–300 миллионов человек, из которых 1–3 миллиона умирают. Вызывается представителями четырех видов рода *Plasmodium*, которые передаются человеку через укус самки малярийного комара любого из 60 видов рода *Anopheles*. Наиболее досконально изученный из вызывающих малярию паразитов — *Plasmodium falciparum* — существует не менее чем в восьми различных формах, и для завершения полового цикла ему необходимы как хозяин в лице человека, так и хозяин в лице комара (рис. 24.10, а). В кровотоке зараженного человека образуются гаметоциты, которые могут развиваться в гаметы, а затем слиться в зиготу только в кишечнике комара. Три формы *Plasmodium* узкоспециализированы на проникновение и репликацию в определенных тканях — это выстилка кишечника насекомого, печень человека и красная клетка крови человека. Даже в клетке хозяина одного типа, красной клетке крови, паразит *Plasmodium* проходит сложную последовательность стадий развития, выраженную впечатляющими морфологическими изменениями (рис. 24.10, б, в, г), а также специфичной к определенным стадиям регуляцией большинства его транскриптов (рис. 24.11).



а) МИЦЕЛИАЛЬНЫЙ РОСТ



б) ДРОЖЖЕПОДОБНЫЙ РОСТ

Рис. 24.9. Диморфизм патогенного грибка *Histoplasma capsulatum*. а) При низкой температуре в почве *Histoplasma capsulatum* растет в виде многоклеточной мицелиальной плесени. б) После попадания в легкие млекопитающего в *Histoplasma* происходит морфологический переход, обусловленный изменением температуры. В этой одноклеточной дрожжеподобной форме он сильно напоминает *Saccharomyces cerevisiae*.

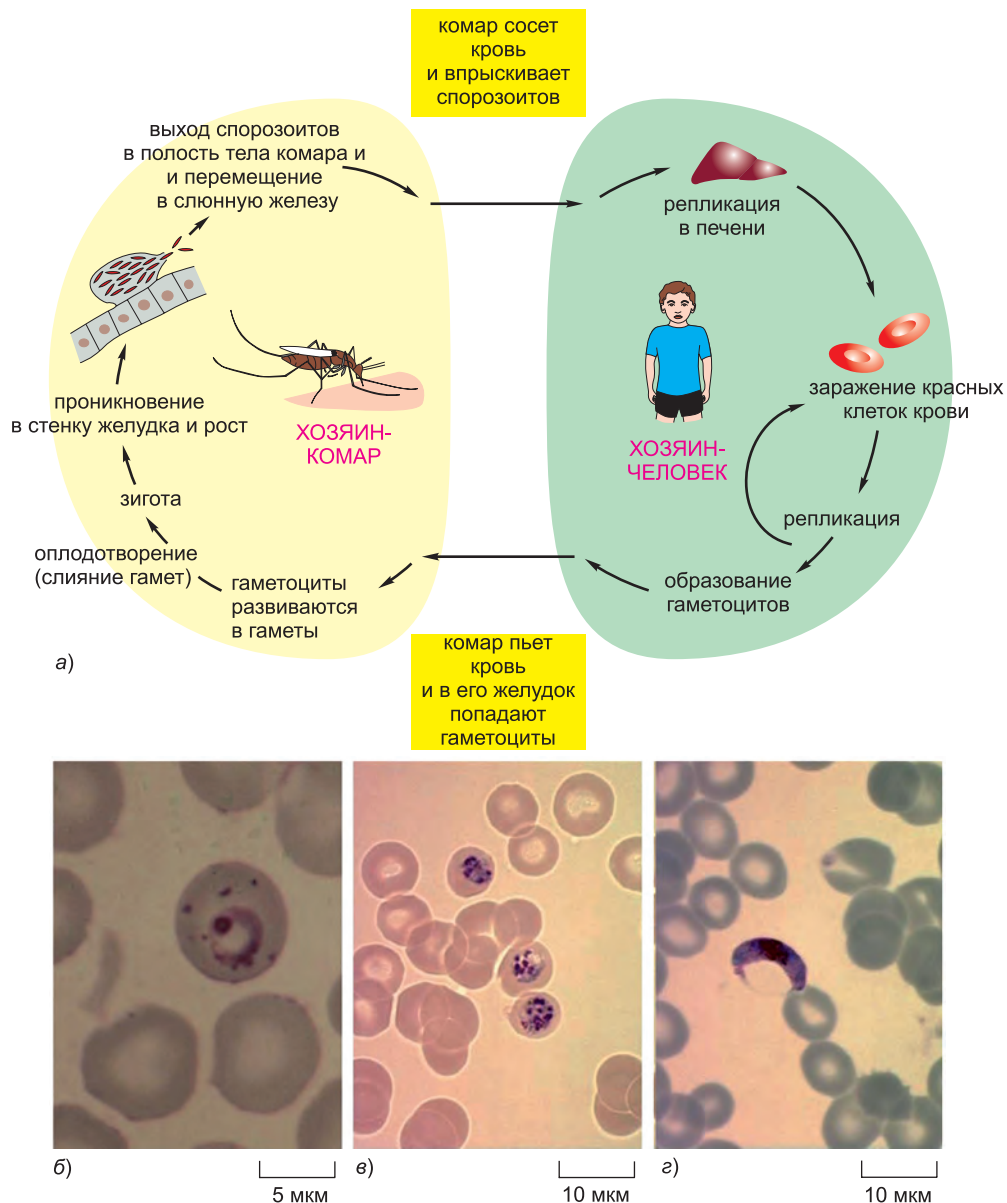
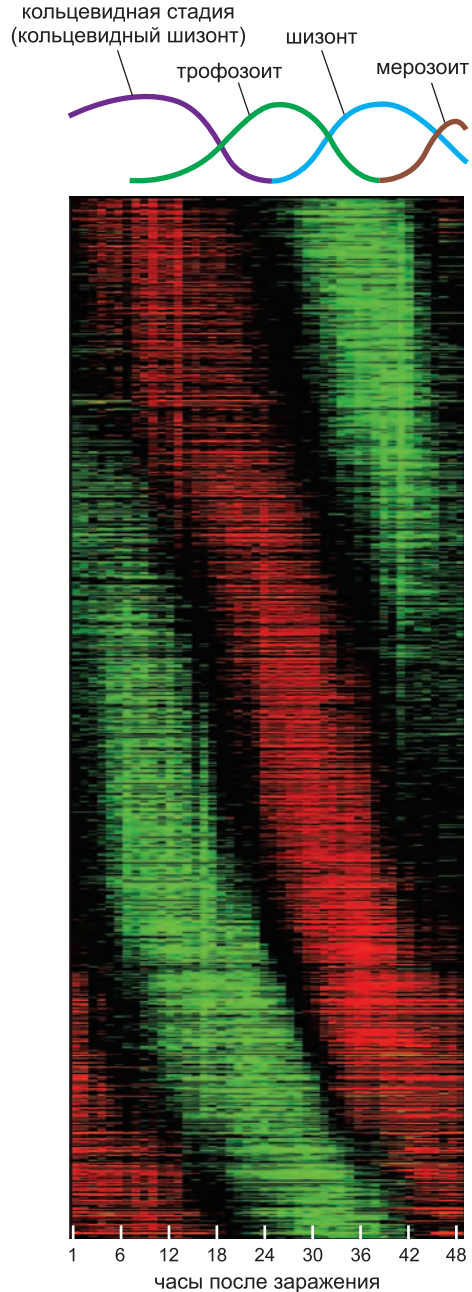


Рис. 24.10. Сложный жизненный цикл малярийного плазмодия. а) Половой цикл *Plasmodium falciparum* предполагает смену хозяина-человека хозяином-насекомым. б–г) Мазки крови, взятые у людей, больных малярией, показывающие три разные формы, в которых пребывает паразит в эритроцитах: б) кольцевидная стадия (кольцевидный шизонт); в) шизонт; г) гаметоцит. (Микрофотоснимки любезно предоставлены Центром по контролю заболеваний, отделением паразитарных болезней (DPDx).)

Поскольку малярия является столь распространенным и губительным заболеванием, она служит мощным фактором естественного отбора для популяции человека в областях распространения малярийного комара *Anopheles*. Например, *серповид-*

Рис. 24.11. Меняющаяся со временем транскрипционная программа малярийных плазмодиев, развивающихся в эритроцитах. РНК выделяли из эритроцитов, зараженных *Plasmodium falciparum*, с 1-часовым интервалом на протяжении 48 часов. На этом изображении каждая горизонтальная линия представляет один из примерно 2 700 генов, у которых в ходе развития инфекции значительно меняется уровень транскрипции. Красный цвет обозначает увеличение относительного содержания мРНК по сравнению со средним значением, а зеленый означает уменьшение. Гены расположены в порядке сверху вниз согласно относительным фазам активации их транскрипции. Наблюдаемая регулярная, упорядоченная и последовательная экспрессия генов согласуется с морфологическими превращениями паразита *Plasmodium* при его прохождении через кольцевидную стадию (стадию кольцевидного шизонта), стадию трофозоита, стадию шизонта и стадию мерозоита, которые сменяют одна другую в эритроцитах зараженного человека (см. рис. 24.10, б, в и г). (Переработано на основе Z. Bozdech et al., *PLoS Biol.* 1: E5, 2003. С любезного разрешения Public Library of Science.)



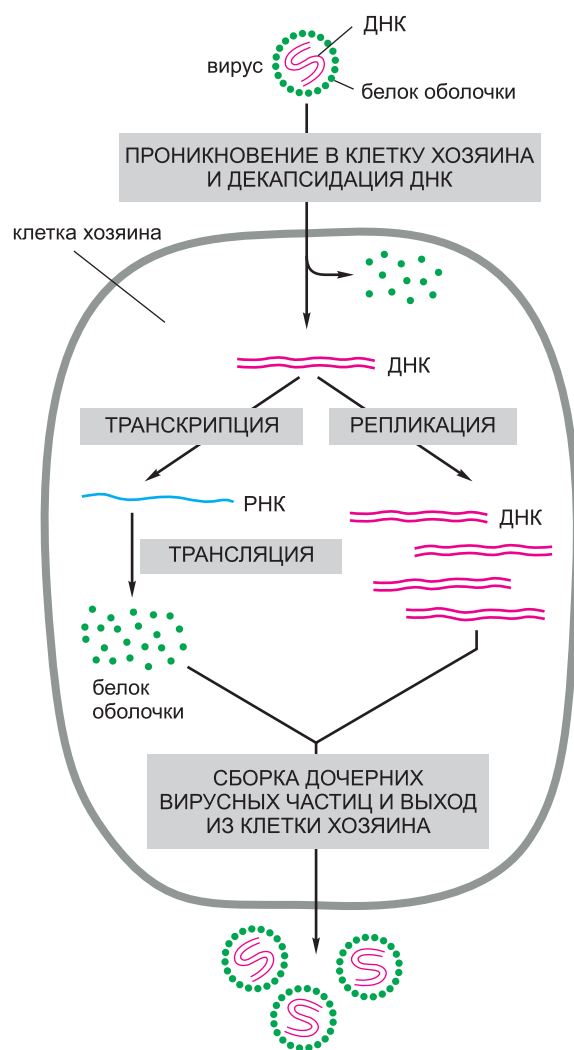
ноклеточная анемия представляет собой рецессивное генетическое заболевание, обусловленное точечной мутацией в гене, кодирующем β -цепь гемоглобина, и широко распространенное в областях Африки, где часты случаи заболевания самой серьезной формой малярии (вызываемой *Plasmodium falciparum*). Малярийные плазмодии плохо растут в красных клетках крови как гомозиготных больных серповидноклеточной анемией, так и здоровых гетерозиготных ее носителей, и в результате среди носителей этой мутации больные малярией встречаются редко. По этой причине в таких областях Африки малярия способствовала поддержанию на высоком уровне частоты встречаемости в общем-то пагубной мутации, приводящей к серповидноклеточной анемии.

24.1.6. На всех этапах своего размножения вирусы используют аппарат клетки хозяина

Бактерии, дрожжи и простейшие имеют клеточную организацию. Даже в роли внутриклеточных патогенов они используют свой собственный аппарат репликации, транскрипции и трансляции ДНК и располагают собственными источниками

метаболической энергии. **Вирусы**, напротив, представляют пример облигатных паразитов, имеющих при себе немногим более чем информацию в форме нуклеиновой кислоты. Эта информация реплицируется, упаковывается и сохраняется в основном силами клетки хозяина (рис. 24.12). Вирусы имеют небольшой геном, состоящий из нуклеиновой кислоты какого-то одного типа — или ДНК, или РНК, — которая, в обоих случаях, может быть одноцепочечной или двухцепочечной. Геном упакован в белковую оболочку, которая у некоторых вирусов снаружи покрыта еще липидной оболочкой.

Существует много способов размножения вирусов. Как правило, размножение вируса включает: 1) разборку инфекционной вирусной частицы, 2) репликацию вирусного генома, 3) синтез вирусных белков аппаратом трансляции клетки хозяина и 4) вторичную сборку этих компонентов в вирусные частицы следующего поколения. Отдельная вирусная частица (*вирион*), заразившая отдельную клетку хозяина, может произвести тысячи потомков в зараженной клетке. Такое колоссальное приумножение зачастую губит клетку хозяина: зараженная клетка разрывается



(лизироваться) и тем самым обеспечивают дочерним вирионам доступ к близлежащим клеткам. Многие из клинических проявлений некоторых видов вирусной инфекции отражают именно такое *цитолитическое действие* вируса. И пузырьчатые высыпания (герпес губ), вызванные вирусом *простого герпеса*, и рубцы, образованные вирусом *натуральной оспы*, служат примерами проявления гибели эпидермальных клеток на участке зараженной кожи. Как мы уже обсуждали ранее и еще будем обсуждать позже, причиной смерти некоторых клеток хозяина могут быть также реакции иммунной системы на вирус.

Вирионы представлены огромным разнообразием форм и размеров, и, в отличие от клеточных форм жизни, их нельзя систематически сгруппировать на основании родства в одно филогенетическое дерево. Благодаря их крошечно-

Рис. 24.12. Простейший жизненный цикл вируса. Представленный на рисунке гипотетический вирус состоит из маленькой двухцепочечной молекулы ДНК, кодирующей только один белок вирусного капсида. Ни один из известных науке вирусов не отличается подобной простотой.

му размеру сегодня мы имеем полные последовательности геномов почти всех клинически значимых вирусов. Вирионы *вируса оспы* одни из самых крупных (до 450 нм в длину), что сопоставимо с размерами маленькой бактерии. Их геном представлен двухцепочечной ДНК, состоящей из приблизительно 270 000 п. н. На другом конце размерной шкалы находятся вирионы парвовируса, которые имеют менее 20 нм в диаметре и геномом, представленный однонитевой ДНК размером менее 5 000 нуклеотидов (рис. 24.13). Генетическая информация вируса содержится в последовательности нуклеиновых кислот, молекулы которых иногда могут иметь самые необычные формы (рис. 24.14).

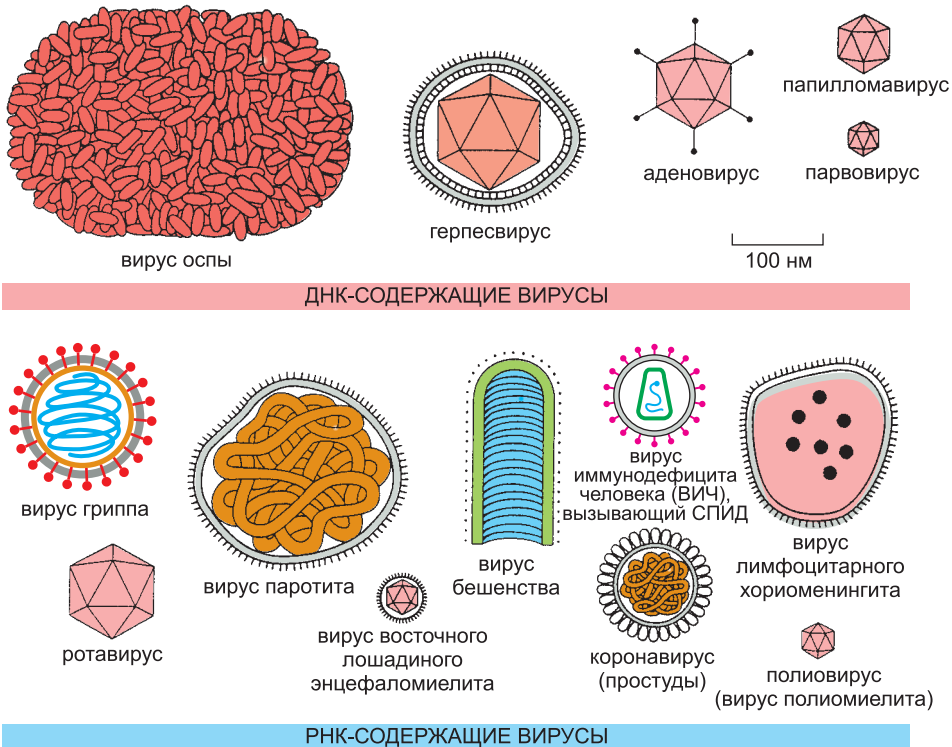


Рис. 24.13. Примеры морфологии вирусов. Как показано на рисунке, и ДНК-, и РНК-содержащие вирусы сильно различаются по размеру и форме.

Капсид, в который упакован геном вируса, состоит из одного или нескольких видов белков, организованных в регулярно повторяющиеся слои и структуры; геном вируса в комплексе с его капсидом называют **нуклеокапсидом**. У **оболочечных вирусов** нуклеокапсид окружен двухслойной липидной мембраной, которую вирус приобретает в процессе отпочковывания от плазматической мембраны клетки хозяина (рис. 24.15). Тогда как **безоболочечные вирусы** обычно покидают зараженную клетку посредством ее лизиса, оболочечный вирус может покинуть клетку путем выпоноковывания из нее, не разрывая плазматическую мембрану и поэтому не убивая клетку. Вирусы с оболочкой могут вызывать хронические инфекции, которые могут длиться годами, нередко без какого-либо заметного пагубного воздействия на хозяина.

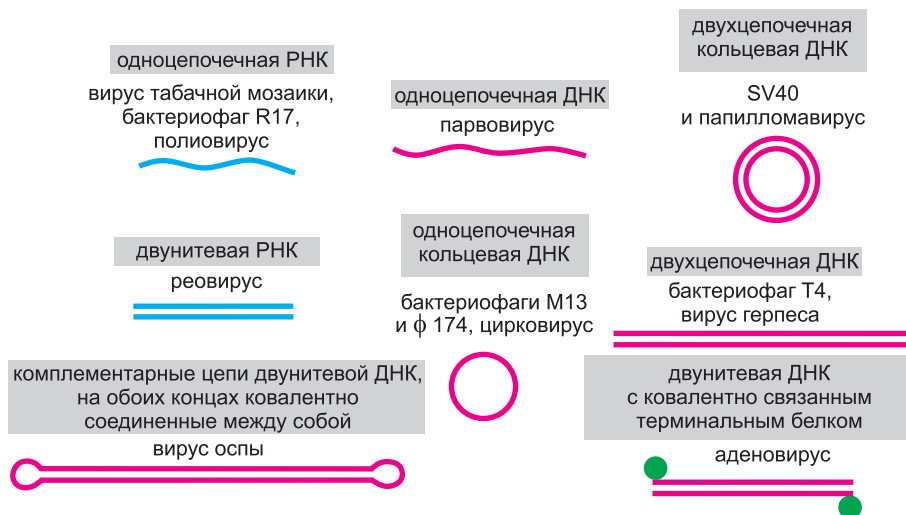


Рис. 24.14. Схематическое изображение некоторых типов вирусных геномов. Геном самых маленьких вирусов содержит всего лишь несколько генов и может быть представлен либо молекулой РНК, либо молекулой ДНК. Геном самых крупных вирусов содержит сотни генов и представлен двунитевой ДНК. Особые структуры концевых участков (равно как и кольцевые формы) позволяют преодолеть трудности репликации нескольких последних нуклеотидов на конце нити ДНК (обсуждалось в главе 5).

Несмотря на такое разнообразие, все вирусные геномы кодируют белки всего лишь трех типов: белки для репликации генома, белки для упаковки генома и доставки его большему числу клеток хозяина и белки для модификации структуры или функции клетки хозяина с целью усиления размножения вирионов (рис. 24.16). На вирусных белках третьего класса мы сосредоточим наше внимание во втором разделе этой главы. Многие вирусные геномы кодируют также белки четвертого класса, которые модулируют или подрывают нормальные механизмы иммунной защиты хозяина. Некоторые из них будут описаны в заключительном разделе этой главы.

Так как большинство ключевых стадий размножения вируса осуществляется аппаратом клетки хозяина, разработка эффективных противовирусных препаратов проблематична. Если, скажем, антибиотик тетрациклин специфично ингибирует бактериальные рибосомы, то препарат, который бы специфично ингибировал вирусные рибосомы, найти невозможно, поскольку вирусы для производства своих белков используют рибосомы клетки хозяина. Наилучшая стратегия борьбы с вирусными заболеваниями состоит в их профилактике посредством вакцинации потенциальных хозяев. Весьма успешные программы вакцинации фактически уничтожили оспу на всей планете и уже близки к искоренению полиомиелита (рис. 24.17).

24.1.7. Прионы — инфекционные белки

Вся информация в биологических системах зашифрована в структуре. Мы привыкли думать о биологической информации, как о последовательности нуклеиновых кислот (это можно заметить в нашем описании вирусных геномов), но сама последовательность есть не что иное, как условный код, описывающий структуру нуклеиновой кислоты. Репликация и экспрессия информации, закодированной в ДНК

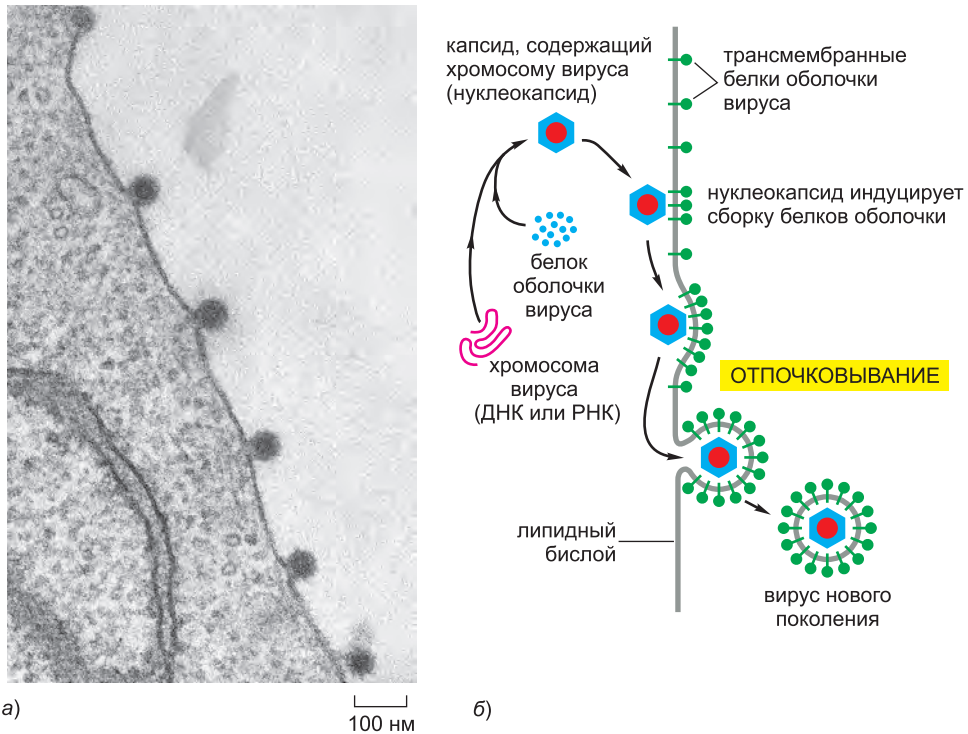


Рис. 24.15. Приобретение вирусом оболочки. а) Электронный микрофотоснимок животной клетки, от которой отпочковывается шесть копий вируса с оболочкой (*вирус леса Семлики*). б) Схематическое изображение процесса сборки оболочки и процесса отпочковывания. Липидный бислой, окружающий капсид вируса, образуется непосредственно из плазматической мембраны клетки хозяина. Белки в составе этого липидного бислоя (показанные зеленым), напротив, кодируются геномом вируса. (Снимок а любезно предоставлен М. Olsen и G. Griffith.)

и РНК, строго зависит от структуры этих нуклеиновых кислот и от их взаимодействий с другими макромолекулами. Для воспроизведения генетической информации прежде всего необходимо, чтобы эта информация хранилась в структуре, которая могла бы быть дублирована из неструктурированных предшественников. Последовательности нуклеиновых кислот — наиболее простое и, пожалуй, самое надежное решение проблемы точного воспроизведения структуры, найденное живыми организмами.

Однако, нуклеиновые кислоты — не единственно возможное решение. **Прионы** — инфекционные агенты, которые размножаются в организме хозяина посредством воспроизведения аномальной структуры белка. Как установлено, они встречаются у организмов в диапазоне от дрожжей и голожаберных моллюсков до человека и вызывают различные нейродегенеративные заболевания у млекопитающих. Самая известная прионная инфекция — *губчатая энцефалопатия* крупного рогатого скота (ГЭКРС, или коровье бешенство; Bovine spongiform encephalopathy, BSE; mad cow disease), которая иногда передается людям, съевшим мясо зараженной коровы (рис. 24.18); ГЭКРС может передаваться также и от человека к человеку при переливании крови. Выделение инфекционных прионов, вызывающих у овец болезнь *почесуху* (*скрейти*), которому предшествовали годы кропотливых лабора-

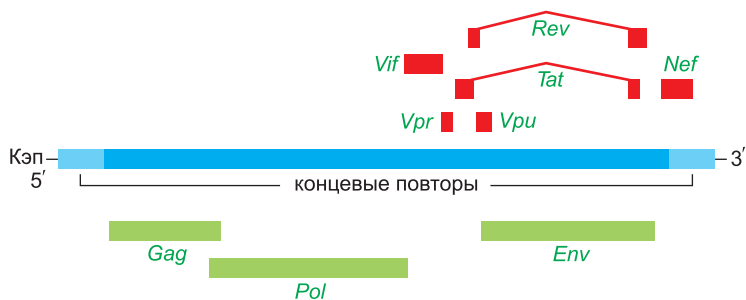


Рис. 24.16. Карта генома ВИЧ. РНК-геном этого ретровируса состоит приблизительно из 9 000 нуклеотидов и содержит девять генов, местоположения которых отмечены зеленым и красным цветами. Три гена (зеленые) характерны для всех ретровирусов: ген *Gag* кодирует белки капсида, ген *Env* кодирует белки оболочки, а ген *Pol* кодирует обратную транскриптазу (катализирующую синтез ДНК на матрице РНК) и интегразу (которая катализирует встраивание полученной копии ДНК в геном клетки хозяина) (обсуждалось в главе 5). Геном ВИЧ необычайно сложно устроен, потому что вдобавок к трем большим генам (зеленым), как правило необходимым для осуществления жизненного цикла ретровируса, он содержит шесть малых генов (красных). Некоторые из этих малых генов кодируют белки, регулирующие экспрессию генов вируса (гены *Tat* и *Rev* — см. рис. 7.103); другие кодируют белки, модифицирующие процессы, протекающие в клетке хозяина, в том числе транспорт белков (*Vpr* и *Nef*) и прохождение клеточного цикла (*Vpr*). Как видно из рисунка (красные линии), для образования белков *Rev* и *Tat* необходим сплайсинг РНК (с использованием сплайсосом клетки хозяина).

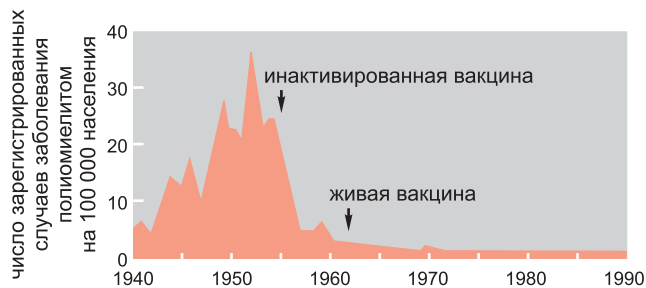


Рис. 24.17. Искоренение вирусного заболевания посредством вакцинации. На графике отображено число ежегодно регистрируемых в Соединенных Штатах случаев заболевания полиомиелитом. Стрелками обозначены год введения в обращение вакцины Солка (инактивированный вирус, вводимый путем инъекции) и год появления вакцины Сэбина (живой ослабленный вирус, принимаемый внутрь).

торных исследований зараженных почесухой мышей, в конечном счете показало, что причиной инфекции является белок в чистом виде, без нуклеиновых кислот.

Что интересно, инфекционный прионный белок синтезирует сам хозяин, и аминокислотная последовательность приона идентична таковой нормального белка хозяина. Более того, прионная и нормальная формы белка неразличимы по своим посттрансляционным модификациям. Единственное различие между ними, по-видимому, заключено в их конформации. Прионный белок с аномальной конформацией стремится к агрегации и образованию высокоупорядоченных спиралевидных волокон, названных *амилоидными фибриллами*. Рост амилоидных фибрилл происходит на концах, почти так же как рост белковых филаментов цитоскелета, о котором было рассказано в главе 16, за исключением того, что белковые



Рис. 24.18. Разрушение нервной ткани при заражении прионами. На этом микрофотоснимке представлен срез мозга человека, умершего от куру. Куру — прионная болезнь человека, во многом подобная ГЭКРС, распространявшаяся от одного человека к другому через ритуальный каннибализм в Новой Гвинее. Большие заполненные жидкостью поры — области гибели нейронов. Именно из-за таких характерных пор вызываемые прионами неврологические болезни называют *губчатыми энцефалопатиями*. (Фотография любезно предоставлена Gary Vaumbach.)

субъединицы подвергаются структурному переходу из нормальной конформации в аномальную, когда становятся частью амилоидного полимера (см. рис. 6.95). Иными словами, прионный белок, обладающий аномальной пространственной структурой, имеет паразитическую способность вызывать структурное превращение нормального белка в прионный белок с аномальной конформацией; это приводит к тому, что нормальный белок становится инфекционным, что равносильно тому, как если бы прион размножился в организме хозяина. Если одна из амилоидных фибрилл распадается на меньшие фрагменты, то каждый из них может стать заправкой в процессе конформационного перехода в новой клетке; поэтому прион способен не только размножаться, но и распространяться. Новоявленные прионы могут также распространять инфекцию от организма к организму, если будут съедены новым восприимчивым реципиентом.

Неизвестно, каким образом большинству нормальных белков удается найти единственно правильную конформацию среди миллиардов возможных, не оказавшись в тупиковых промежуточных состояниях («интермедиатах») (обсуждалось в главах 3 и 6). Прионы — хороший пример того, как сворачивание белка может пойти по опасному, неправильному пути. Но почему прионные болезни настолько редки? Каковы ограничения, определяющие, будет ли неправильно свернутый белок вести себя подобно приону, либо просто повторно свернется, или будет деградирован клеткой, которая его синтезировала? Мы еще не знаем ответов на эти вопросы, и изучение прионов остается областью интенсивной научно-исследовательской работы.

24.1.8. Возбудители инфекционных болезней имеют отношение к раку, заболеваниям сердца и другим хроническим заболеваниям

До сих пор мы рассматривали микроорганизмы прежде всего с позиции их роли в качестве возбудителей инфекционных заболеваний. Однако известно и то, что во многих случаях вирусные и бактериальные инфекции могут внести вклад в патогенез значимых и опасных для жизни болезней, которые обычно не относят к инфекционным. Один очевидный пример — рак. Концепция онкогена, состоящая в том, что некоторые видоизмененные гены могут вызвать (трансформацию) преобразование клеток и развитие опухоли, изначально возникла в ходе исследований *вируса саркомы Рауса*, который становится причиной одной из форм рака (саркомы) у кур. В результате установлено, что один из генов вируса кодирует сверхактивный белок, гомологичный имеющейся в организме хозяина тирозинкиназе Src, для которой с того момента была установлена причастность ко многим видам рака.

Хотя вирус саркомы Рауса не может стать причиной рака у человека, несколько видов рака человека, как теперь известно, имеют вирусную природу. Например, *папилломавирус человека*, который вызывает появление остроконечных кондилом, — также причина более чем 90% случаев рака шейки матки. Распространенный по всему миру, рак шейки матки — второй по частоте встречаемости среди женского населения рак, имеющий коэффициент смертности около 40%. Повсеместные обследования с цитологическим исследованием мазков Папаниколау (Pap smear test) снизили число новых случаев и тяжесть заболевания раком шейки матки в богатых странах, но в развивающихся странах рак шейки матки все еще встречается довольно часто. Недавно разработанная вакцина против самых распространенных типов папилломавируса человека высокой степени канцерогенного риска дает надежду на то, что за счет простых и сравнительно недорогих мер можно будет предотвратить заболевания этой формой рака во всем мире.

Вирус Эпштейна–Барр (Epstein-Barr virus, EBV) предоставляет более сложный пример опосредованного вирусной инфекцией рака человека. Заражение этим ДНК-содержащим вирусом приобрело настолько массовый характер, что почти у 90% взрослого населения в Соединенных Штатах старше 40 лет в крови обнаруживается детектируемый уровень антител, специфичных к EBV. EBV преимущественно поражает долгоживущие В-клетки системы приобретенного иммунитета, в особенности В-клетки памяти (будут рассмотрены в главе 25). У большинства людей, зараженных в детстве, симптомы проявляются незначительно, и они не осознают, что были заражены, но у подростков и молодых людей, зараженных впервые, часто развивается *мононуклеоз* (называемый также *моноцитарной ангиной*) — серьезное заболевание, которое может сопровождаться повышением температуры тела, болезненным увеличением лимфатических узлов и повышенной утомляемостью, которые могут проявляться в течение нескольких месяцев. После исчезновения симптомов, EBV может сохраняться в В-клетках в латентной форме на протяжении всей жизни, и его геном будет поддерживаться в виде внехромосомной плазмиды в ядре В-клетки. Некоторые из кодируемых геномом EBV продуктов препятствуют апоптозу и тем самым, предположительно, помогают вирусу избегать удаления из организма человека. Таким образом, когда в зараженной В-клетке происходит накопление обуславливающих рак мутаций, обычный механизм уничтожения предраковых клеток апоптозом ингибируется и может развиваться одна из форм рака В-клеток, лимфома Беркитта.

В некоторых случаях хроническое повреждение ткани, вызываемое инфекцией, может повысить вероятность развития рака в зараженной ткани. Обитающая в желудке бактерия *Helicobacter pylori* была признана главной причиной всех видов рака желудка, а также язв желудка, а *вирусом гепатита*, возбудителем хронических инфекций печени (хронического гепатита), обусловлено более 60% случаев рака печени.

Одна из основных, наряду с раком, причин смерти населения богатых и промышленно развитых стран — сердечно-сосудистые заболевания, зачастую вызванные атеросклерозом, накоплением на стенках кровеносных сосудов жировых отложений, которые могут препятствовать току крови. Возникающая в силу этого ишемия может иметь пагубные для сердца и мозга последствия. Характерным признаком раннего атеросклероза служит появление на стенках кровеносных сосудов скоплений необычного вида макрофагов, называемых пенистыми клетками, так как они нагружены поглощенными ими жировыми каплями. Пенистые клетки выделяют цитокины, которые привлекают другие белые клетки крови в образующуюся атеросклеротическую бляшку, которая также накапливает в себе внеклеточный матрикс. Непрерывное накопление клеток и матрикса может со временем привести к перекрытию тока крови, или же может произойти разрыв растущей бляшки, инициирующий тромбообразование, которое уже точно приведет к перекрытию кровотока; более того, от тромба могут оторваться частицы и стать эмболами, которые закупорят более мелкие кровеносные сосуды далее по кровотоку. Что интересно, в пенистых клетках атеросклеротических бляшек зачастую присутствует безвредная бактерия *Chlamydia pneumoniae*, которая обычно вызывает воспаление легких у человека (рис. 24.19). Многочисленные данные говорят о том, что заражение *C. pneumoniae* — существенный фактор риска возникновения атеросклероза у человека и модельных животных. Также в атеросклеротических бляшках обнаружена ДНК других видов бактерий, в том числе ДНК бактерий, обычно характерных для зубов и десен (*Porphyromonas gingivalis*). Связь между возбудителями инфекций и атеросклерозом — предмет активных исследований.

Помимо вклада в угрожающее жизни развитие рака и сердечно-сосудистых заболеваний, возбудители инфекций, как полагают, задействованы в развитии многих хронических

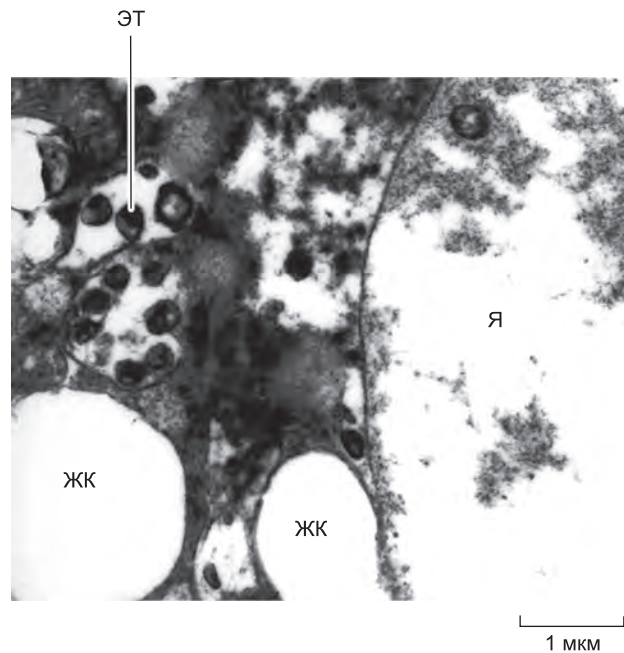


Рис. 24.19. *Chlamydia pneumoniae* внутри пенистой клетки макрофага в атеросклеротической бляшке. Подписи на этом электронном микрофотоснимке обозначают: ЭТ — элементарное тельце (бактерия); ЖК — жировая капля; Я — ядро макрофага. (Фото заимствовано из L. A. Campbell and C. C. Kuo, *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 23–32, 2004. С любезного разрешения Macmillan Publishers Ltd.)

болезней, хотя нередко бывает трудно определить: инфекция — это причина или следствие заболевания. Однозначным примером инфекционной природы хронического заболевания служит *болезнь Лайма* — бактериальная инфекция, вызываемая спирохетами *Borrelia burgdorferi*. Заражение происходит через укус клеща и может стать причиной болезненного хронического артрита, если не будет выявлено и вовремя пролечено антибиотиками. Имунные реакции, лежащие в основе артрита, могут быть инициированы еще несколькими бактериальными инфекциями, среди которых инфекции грамположительными кокками и инфекции маленькими бактериями, не имеющими клеточной стенки (*Mycoplasma*). У некоторых людей хроническая астма обусловлена *Mycoplasma*, *Chlamydia pneumoniae* или двумя бактериями одновременно. По мере того как мы все больше и больше узнаем о сложных взаимодействиях между патогенами и организмом человека, крепнет уверенность в том, что постепенно у все большего и большего числа хронических заболеваний будет обнаружена связь с каким-нибудь инфекционным возбудителем. И тогда, как это было в случае язвы желудка, уничтожение инфекции могло бы привести к устранению болезни или по крайней мере частично снять ее болезненные симптомы.

Заключение

Инфекционные болезни вызываются патогенами, в качестве которых могут выступать бактерии, грибы, простейшие, черви, вирусы и даже инфекционные белки — прионы. Всем патогенам необходимо иметь специальные механизмы для проникновения в своего хозяина и для уклонения от незамедлительного разрушения хозяином. Большинство бактерий не патогенны. А те, что патогенны, содержат особые гены вирулентности, которые опосредуют взаимодействия с хозяином, вызывая такие реакции клеток хозяина, которые способствуют размножению и распространению патогена. Болезнетворные грибы, простейшие и прочие паразитические эукариоты в процессе развития инфекции обычно последовательно принимают несколько различных форм; способность к переключению между формами обычно необходима паразиту для выживания в организме хозяина и для того, чтобы возбудить болезнь. В некоторых случаях, как в случае малярии, паразиту для завершения жизненного цикла необходима последовательная смена хозяев нескольких видов. В отличие от паразитических бактерий и эукариот, вирусы не имеют своего собственного метаболизма и не обладают способностью самостоятельно синтезировать белки, кодируемые их ДНК- или РНК-геномами, а потому в деле производства своих белков и репликации своих геномов они всецело полагаются на подчинение аппарата клетки хозяина. Прионы, мельчайшие и простейшие возбудители болезней, не содержат нуклеиновой кислоты, а представляют собой редко встречающиеся белки, обладающие аномальной трехмерной структурой, которые размножаются, становясь катализаторами неправильного сворачивания нормальных белков хозяина с той же последовательностью аминокислот, что и у прионных белков.

24.2. Клеточная биология инфекционных процессов

Механизмы, с помощью которых патогены вызывают заболевания, столь же разнообразны, сколь и сами патогены. Тем не менее должны выполняться некоторые общие для всех патогенов задачи: им нужно колонизировать организм хозяина, занять подходящую нишу, избежать защитных мер хозяина, размножиться и выйти

из зараженного хозяина, чтобы распространиться на незараженных хозяев. В этом разделе мы рассмотрим общие стратегии, к которым прибегают многие патогены для выполнения этих задач.

24.2.1. Чтобы колонизировать организм хозяина, патогены должны преодолеть защитные барьеры

На первом этапе заражения патогену необходимо колонизировать организм хозяина. Большинство частей тела человека защищено от окружающей среды толстым и довольно плотным кожным покровом. Защитные барьеры некоторых других тканей человека (глаза, носовые ходы, дыхательные пути, ротовая полость, пищеварительный тракт, мочевыводящие пути и женские половые пути) менее надежны. Скажем, в легких и тонком кишечнике, где из окружающей среды поглощаются соответственно кислород и питательные вещества, барьером служит лишь только односторонний слой эпителиальных клеток.

Кожа и многие другие эпителиальные барьеры густо заселены нормальной микрофлорой. Некоторые патогены также заселяют эти поверхности и предпринимают попытки вытеснить нормальную микрофлору, но большинство патогенов уклоняется от такого соревнования, преодолевая защитные барьеры, с целью получить доступ к свободным нишам внутри организма хозяина.

Повреждения в защитном эпителии открывают патогенам прямой доступ к подопным нишам. Такой путь проникновения не требует особой патогенной специализации, и многие представители нормальной микрофлоры могут проникнуть через такие повреждения и стать причиной тяжелого заболевания. К примеру, анаэробные бактерии рода *Bacteroides* в качестве безвредной микрофлоры с очень высокой плотностью населяют толстый кишечник, но если они попадут в брюшную полость через отверстие в стенке кишечника, образовавшееся в результате травмы, операции или инфекции, то могут вызвать опасный для жизни перитонит. *Staphylococcus* с поверхности кожи и со слизистой носа или *Streptococcus* из горла и ротовой полости также становятся причиной многих серьезных инфекций, возникающих при нарушении эпителиальных барьеров.

Однако первичным патогенам не нужно дожидаться раны, чтобы проникнуть в организм хозяина. Особенно эффективный для патогена способ проникнуть через кожу — это оказаться в слюне кровососущего членистоногого. Многие насекомые и клещи кормятся, высасывая кровь у млекопитающих, и разнородная группа бактерий, вирусов и простейших развила в себе способность жить в организме членистоногих и затем использовать их в качестве *переносчиков*, чтобы распространяться от одного хозяина-млекопитающего к другому. Как упоминалось ранее, вызывающий малярию представитель простейших *Plasmodium* за свой жизненный цикл сменяет несколько форм, при этом одни его формы специализированы для выживания в организме человека, а другие специализированы для выживания в теле комара (см. рис. 24.10). К распространяемым через укусы насекомых вирусам относятся и возбудители нескольких типов геморрагической лихорадки, включая желтую лихорадку и лихорадку денге, а также возбудители многих видов вирусного энцефалита (воспаления головного мозга). Все эти вирусы реплицируются и в клетках насекомого, и в клетках млекопитающего, так как это обязательное условие для их распространения насекомыми. Переносимые с кровью вирусы, такие как ВИЧ, которые не способны реплицироваться в клетках насекомого, очень редко, если когда-либо вообще, передаются через укусы насекомых.

Для эффективного распространения патогена посредством насекомого-переносчика необходимо, чтобы одно насекомое потребляло кровь от многочисленных хозяев-млекопитающих. Существует несколько поразительных примеров, когда патоген, по-видимому, изменяет поведение насекомого так, чтобы его перенос стал более вероятным. Как и большинство животных, муха цеце (через укусы которой распространяется паразит, представитель простейших *Trypanosoma brucei*, возбуждающий сонную болезнь в Африке) прекращает есть, когда насыщается. Однако мухи цеце, несущие трипаносомы, совершают больше укусов и высасывают больше крови, чем незараженные мухи. Присутствие трипаносом нарушает работу механорецепторов насекомого, измеряющих поток крови через пищевод для оценки наполнения желудка, что фактически вводит в заблуждение муху цеце, которая думает, что она все еще голодна. Возбудитель бубонной чумы, бактерия *Yersinia pestis*, использует иной механизм, гарантирующий, что переносица ее блоха будет совершать укусы многократно: она размножается в переднем отделе пищеварительного тракта блохи, образуя сгустки, которые увеличиваются и в конечном счете физически закупоривают пищеварительный тракт. Вследствие этого насекомое не может нормально питаться и начинает страдать от голода. Во время неоднократных попыток блохи высосать кровь и тем самым ослабить свой голод некоторые бактерии вымываются из переднего отдела пищеварительного тракта в место укуса и таким образом передают чуму новому хозяину (рис. 24.20).

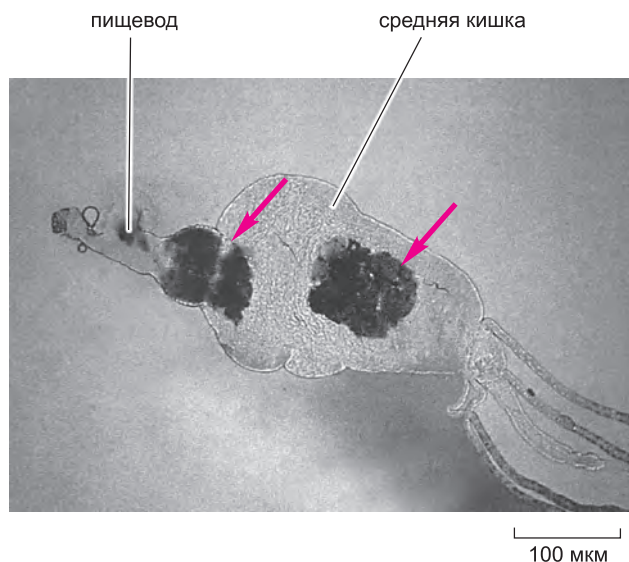


Рис. 24.20. Чумная бактерия в теле блохи. На световом микрорисунке виден пищеварительный тракт, вырезанный из блохи, которая двумя неделями ранее питалась кровью животного, зараженного чумной бактерией *Yersinia pestis*. В кишке блохи бактерии размножились и образовали крупные сгустки (показаны красными стрелками); скопление бактерий слева закрывает проход между пищеводом и средней кишкой. Такого рода закупорка делает невозможным переваривание блохой крови, поступающей при кормлении, а голод приводит к тому, что блоха совершает укусы снова и снова, разнося при этом инфекцию. (Снимок заимствован из B. J. Hinnebusch, E. R. Fischer and T. G. Schwann, *J. Infect. Dis.* 178: 1406–1415, 1998. С любезного разрешения University of Chicago Press.)

24.2.2. Патогенам, колонизирующим эпителий, необходимо избежать устранения хозяином

Проникновение через кожу с помощью хоботка насекомого — лишь одна из стратегий, используемых патогенами для преодоления защитных барьеров хозяина. Тогда как многие эпителиальные барьеры, такие как кожа и выстилки ротовой полости и толстого кишечника, плотно заселены нормальной микрофлорой, другие, включая выстилки нижних долей легкого, тонкого кишечника и мочевого пузыря, обычно поддерживаются почти стерильными, несмотря на наличие относительно прямого пути во внешний мир. Каким же образом эти эпителии избегают колонизации бактериями? Как уже обсуждалось в главе 23, дыхательный эпителий покрыт слоем защитной слизи, а согласованное биение ресничек выносит из легкого слизь, а вместе с ней бактерии и дебрис, и направляет вверх по воздушным путям. Эпителии, выстилающие мочевой пузырь и верхние отделы желудочно-кишечного тракта, также покрыты толстым слоем слизи, и, кроме того, в результате мочеиспускания и перистальтики соответственно происходит периодическое опорожнение этих органов, за счет чего удаляются нежелательные микробы. Безвредные бактерии и паразиты, заражающие эти эпителиальные поверхности, имеют определенные механизмы противостояния этим процессам их выведения из организма хозяина. Те, что заражают мочевыводящие пути, например, противостоят вымывающему действию мочи, прочно прикрепляясь к эпителию, выстилающему стенки путей, при помощи специфических **адгезинов**, которые представляют собой белки или белковые комплексы, опознающие молекулы клеточной поверхности и связывающиеся с ними. Важная группа адгезинов в штаммах *E. coli*, заражающих почки, представлена компонентами *P*-пилей (*P*-фимбрий), которые помогают бактериям прикрепляться к эпителиальным клеткам почек. Эти поверхностные выросты могут иметь несколько микрометров в длину, следовательно, они способны пройти сквозь толщу защитного слоя слизи (см. рис. 24.4, г). На конце пилей расположены белки-адгезины, которые прочно связываются с дисахаридами определенных гликолипидов, находящимися на поверхности клеток почек. Штаммы *E. coli*, заражающие мочевой пузырь, а не почки, экспрессируют пили второго рода, которые позволяют им прикрепляться к эпителиальным клеткам мочевого пузыря. Именно по причине различной специфичности белков-адгезинов, находящихся на концах пилей двух разных типов, бактерии колонизируют разные участки мочевыводящих путей (рис. 24.21). Специфичностью адгезинов ограничивается также диапазон потенциальных хозяев для этих и многих других безвредных бактерий.

Один из сложнейших для колонизации микробами органов — желудок. В добавок к тому что он покрыт толстым слоем слизи и в нем происходят «очищающие» перистальтические сокращения, желудок наполнен кислотой (в среднем pH ≈ 2). Столь экстремальная среда губительна почти для всех бактерий, поглощенных вместе с пищей. Тем не менее желудок колонизирован выносливой и предприимчивой бактерией *Helicobacter pylori*, которая недавно признана основной причиной язвы желудка, а в некоторых случаях и рака желудка. Что удивительно, в большинстве хозяев ей удается оставаться безвредным симбиотом на протяжении всей их жизни. Хотя старые методы лечения язвы (лекарственные препараты, снижающие кислотность, и щадящие диеты) все еще применяются для снятия воспаления, теперь пациентов с рецидивирующей язвой желудка можно эффективно излечить с помощью короткого и относительно дешевого курса антибиотиков. Сначала гипотеза о том, что хроническая

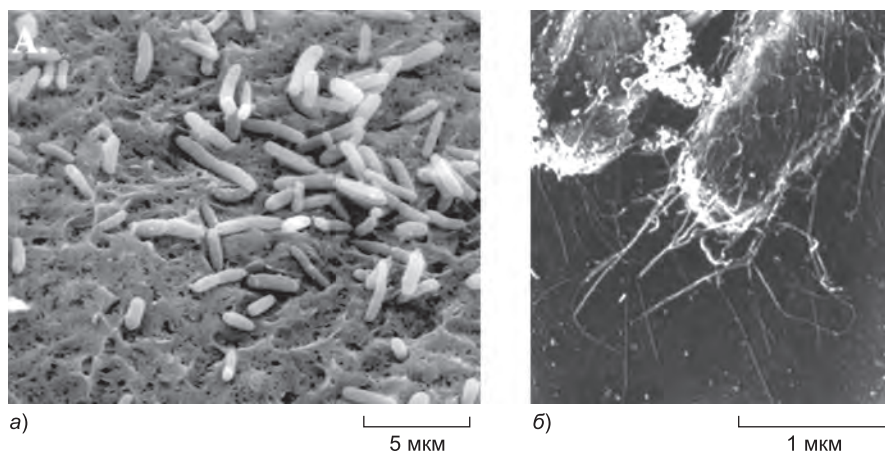


Рис. 24.21. Вызывающая заболевания мочевыводящих путей (уропатогенная) *E. coli* в зараженном мочевом пузыре мыши. а) Снимок уропатогенной *E. coli* — частой причины инфекции мочевого пузыря и почек, полученный с помощью сканирующего электронного микроскопа. Бактерии прикреплены к поверхности эпителиальных клеток, выстилающих зараженный мочевой пузырь. б) Вид крупным планом одной из бактерий: видны пили на ее поверхности. (Снимок а заимствован из G. E. Soto and S. J. Hultgren, *J. Bact.* 181: 1059–1071, 1999; фото б любезно предоставлено авторами работы D. G. Thanassi and S. J. Hultgren, *Meth. Comp. Meth. Enzym.* 20: 111–126, 2000. С великодущного разрешения Academic Press.)

бактериальная инфекция выстилки желудка может стать причиной язвы желудка, была встречена с большим скептицизмом. Но молодому австралийскому врачу, сделавшему это открытие, в конце концов удалось доказать свою правоту: он выпил колбу чистой культуры *H. pylori* и заболел гастритом. Один из способов, позволяющих *H. pylori* выживать в желудке, — выработка фермента *уреазы*, который превращает мочевины в аммиак и углекислый газ; таким образом, бактерия окружает себя слоем аммиака, который нейтрализует кислоты в непосредственной близости от нее. К тому же бактерии синтезируют по крайней мере пять типов адгезинов, позволяющих им прикрепляться к эпителию желудка, и производят несколько цитотоксинов, которые разрушают эпителиальные клетки желудка, приводя к образованию болезненных язв. Возникающее в итоге хроническое воспаление способствует пролиферации клеток и тем самым располагает инфицированного индивидуума к развитию рака желудка.

Bordetella pertussis — бактерия, вызывающая коклюш, — еще один замечательный пример активной колонизации. Первый шаг в развитии инфекции *B. pertussis* — колонизация дыхательного эпителия. Бактерии противостоят процессу естественного очищения дыхательных путей (осуществляемому *мукоцилиарным эскалатором*, описанным в главе 23), прочно связываясь с поверхностью реснитчатых клеток, выстилающих дыхательные пути, и размножаясь на них. *B. pertussis* экспрессирует по крайней мере четыре адгезина, которые прочно связываются со специфическими гликолипидами на поверхности реснитчатых клеток. Прикрепленные к эпителию бактерии продуцируют различные токсины, которые в конечном счете убивают реснитчатые клетки, снижая шансы хозяина устранить инфекцию. Наиболее известный из них — *коклюшный токсин*, который, как и токсин холеры, представляет собой фермент, катализирующий ADP-рибозилирование. Он осуществляет ADP-рибозилирование α -субъединицы G-белка G_i , ингибируя подавление G-белком активности аденилатциклазы клетки хозяина, тем самым способствуя

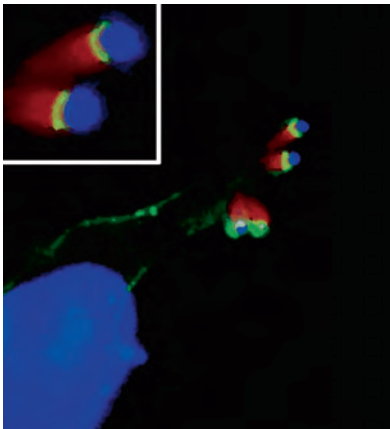
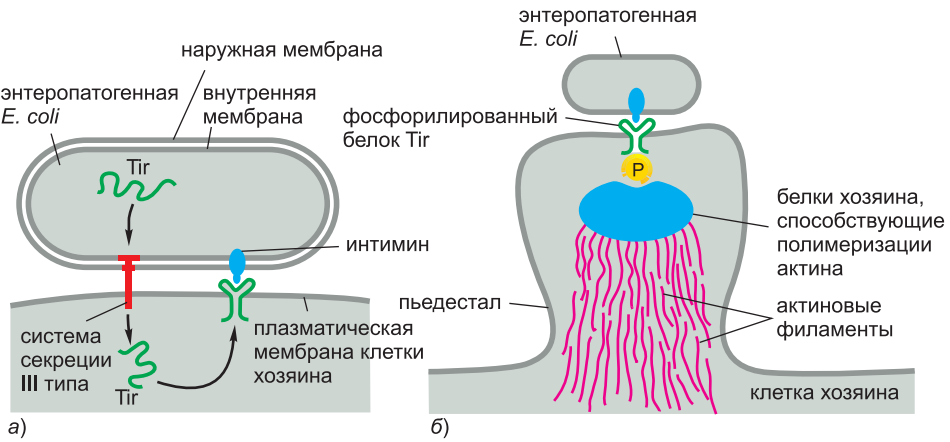
увеличению выработки циклического АМР (описано в главе 15). Кроме того, этот токсин полностью подавляет хемотаксис, используемый нейтрофилами для поиска и уничтожения вторгшихся бактерий (см. рис. 16.101). Не довольствуясь только этим, *B. pertussis* производит еще и свою собственную аденилатциклазу, которая активна в цитоплазме клетки хозяина только будучи в комплексе с Ca^{2+} -связывающим белком эукариот кальмодулином. Хотя и *B. pertussis* и *V. cholerae* вызывают существенное увеличение уровня сАМР в клетках хозяина, к которым они прикрепилась, симптомы болезней отличаются, так как эти две бактерии колонизируют разные области организма хозяина: *B. pertussis* колонизирует дыхательные пути и вызывает приступообразный кашель, тогда как *V. cholerae* колонизирует кишечник и вызывает водянистый стул.

Далеко не для всех случаев специфической колонизации необходимо, чтобы бактерия экспрессировала адгезины, которые связывались бы с гликолипидами или белками клетки хозяина. Вместо этого, энтеропатогенная *E. coli*, вызывающая диарею у детей раннего возраста, использует систему секреции III типа (см. рис. 24.8) для доставки продуцированного бактерией рецепторного белка (называемого T1g), специфичного к самой бактерии, в клетку хозяина (рис. 24.22, а). После встраивания белка T1g в плазматическую мембрану клетки хозяина, белок клеточной поверхности бактерии связывается с внеклеточным доменом белка T1g и запускает поразительный ряд событий в клетке хозяина. Сначала тирозинкиназа клетки хозяина фосфорилирует рецепторный белок T1g по остаткам тирозина, что необычно, так как в белках бактерий тирозины в основном не фосфорилируются. Затем фосфорилированный T1g, как полагают, вовлекает в процесс представителя Rho семейства малых GTPаз, который через ряд промежуточных стадий запускает полимеризацию актина (обсуждалось в главе 16). Полимеризованный актин далее участвует в образовании уникального, названного *пьедесталом* выпячивания клеточной поверхности, которое приподнимает прочно связанную с ним бактерию приблизительно на 10 мкм над поверхностью клетки хозяина (рис. 24.22, б и в).

Приведенные примеры колонизации организма хозяина показывают важность взаимодействия пары хозяин—патоген как в процессе заражения, так и в ходе его эволюции. Болезнетворные организмы приобрели гены, которые кодируют белки, специфически взаимодействующие с определенными молекулами клеток хозяина. В одних случаях, как в случае аденилатциклазы *B. pertussis*, предок патогена мог захватить ген циклазы у своего хозяина, тогда как в других случаях, как в случае белка T1g, случайная мутация могла породить белковые мотивы, узнаваемые эукариотической тирозинкиназой.

24.2.3. Внутриклеточные патогены обеспечены механизмами и проникновения в клетки хозяина, и выхода из них

Многие патогены, в том числе *V. cholerae* и *B. pertussis*, заражают своих хозяев, не проникая в их клетки; такие патогены относят к *внеклеточным патогенам*. Другие же, среди которых все вирусы, а также многие бактерии и простейшие, относятся к **внутриклеточным патогенам**. Предпочтительная ниша для их размножения и жизни — цитозоль или внутриклеточные компартменты определенных клеток хозяина. Такая стратегия имеет несколько преимуществ. Во-первых, патогены становятся недосягаемыми для *антител* (будет рассказано в главе 25) и для фагоцитарных клеток (обсудим позже); во-вторых, они погружены в богатую множеством сахаров, аминокислот и прочих питательных веществ цитоплазму клетки



в) 20 мкм

Рис. 24.22. Взаимодействие энтеропатогенной *E. coli* (EPEC, enteropathogenic *E. coli*) с клетками хозяина в кишечнике. а) Когда EPEC входит в контакт с эпителиальной клеткой выстилки кишечника человека, она доставляет в клетку хозяина бактериальный белок Tir посредством системы секреции III типа. Затем белок Tir встраивается в плазматическую мембрану клетки хозяина, где выступает в роли рецептора бактериального белка-адгезина, а именно интимина. б) Белок клетки хозяина тирозинкиназа фосфорилирует внутриклеточный домен белка Tir по остаткам тирозина. Тогда фосфорилированный белок Tir, в свою очередь, вовлекает в процесс различные белки клетки хозяина, запускающие полимеризацию актина. В итоге под бактерией собирается плотное скопление актиновых филаментов, образуя актиновый пьедестал. в) EPEC на пьедестале. На этом флуоресцентном микрофотоснимке ДНК EPEC и клетки хозяина помечена синим, белок Tir — зеленым, а актиновые филаменты клетки хозяина — красным цветами. На врезке представлен вид крупным планом двух верхних бактерий на пьедесталах. (Снимок взят из D. Goosney et al., *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 16: 173–189, 2000. С любезного разрешения Annual Reviews.)

хозяина. Однако для ведения такого образа жизни патогену необходимо развить механизмы для проникновения в клетки хозяина, для нахождения подходящей субклеточной ниши, где он мог бы размножаться, и для выхода из зараженной клетки с целью распространения инфекции. В продолжении этого раздела мы рассмотрим некоторые из бесчисленных способов, которые отдельно взятые внутриклеточные

патогены используют для эксплуатации и модификации биологии клетки хозяина с целью удовлетворения собственных потребностей.

24.2.4. Вирусные частицы связываются с определенными молекулами на поверхности клетки-хозяина

Первый шаг любого внутриклеточного патогена на пути к цели — связывание с поверхностью клетки-мишени хозяина. Вирусы осуществляют такое связывание за счет взаимодействия вирусного белка на поверхности вириона со специфическим рецептором на поверхности клетки-хозяина. Конечно же, ни один из рецепторов клетки хозяина не эволюционировал ради единственной цели — позволить патогену связываться с ним; все эти рецепторы имеют иные функции. Первым из таких «вирусных рецепторов» был идентифицирован поверхностный белок *E. coli*, позволяющий бактериофагу λ связываться с бактерией. В контексте его роли в бактериальной клетке, нормальная функция — это транспортный белок, отвечающий за всасывание мальтозы. Такие рецепторы, впрочем, не обязательно должны быть белками; к примеру, вирус простого герпеса связывается посредством специфических белков оболочки вируса с гепарансульфат-протеогликанам.

Вирионы, заражающие животные клетки, как правило, используют молекулы рецепторов клеточной поверхности, которые либо очень многочисленны (такие как содержащие сиаловую кислоту олигосахариды, что используются вирусом гриппа), либо уникальны для тех типов клеток, в которых эти вирионы могут размножаться (такие как рецептор фактора роста нервов, никотиновый ацетилхолиновый рецептор (н-холинорецептор) или белок межклеточной адгезии N-CAM, все они используются вирусом бешенства, специфически заражающим нейроны). Обычно большинство вирусов используют одну тип рецепторов, и лишь некоторые вирусы могут использовать рецепторы нескольких различных типов. Более того, различные вирусы, заражающие клетки одного и того же типа, могут использовать различные рецепторы. Например, гепатит может быть вызван представителями по крайней мере шести вирусных семейств, все из которых предпочтительно размножаются в клетках печени (гепатоцитах). Идентифицированы рецепторы для четырех из них, и все они оказались разными. Многие вирионы связываются с рецепторами, экспрессируемыми на клетках иммунной системы. Хотя это и кажется парадоксальным, поскольку следовало бы ожидать, что провоцирование иммунной реакции не способствует выживанию вируса, вторжение в клетку иммунной системы может послужить эффективным способом передвижения по организму и проникновения в лимфоидные органы, которые заполнены другими клетками иммунной системы.

Нередко для эффективного прикрепления и проникновения в клетки хозяина вирионам необходим и первичный рецептор, и вторичный корецептор. Важный пример — вирус иммунодефицита человека ВИЧ, вызывающий СПИД. Первичным рецептором для него служит белок CD4 — белок клеточной поверхности Т-хелперов и макрофагов, участвующий в иммунном узнавании (описано в главе 25). Для проникновения внутрь вирусу необходим также и корецептор — либо белок CCR5 (рецептор β -хемокинов), либо белок CXCR4 (рецептор α -хемокинов), в зависимости от конкретной разновидности вируса (рис. 24.23). Макрофаги чувствительны только к таким разновидностям ВИЧ, которые используют для проникновения корецептор CCR5, тогда как Т-хелперы наиболее эффективно заражаются разновидностями, использующими корецептор CXCR4. Вирусам, обнаруживаемым в течение первых нескольких месяцев после заражения ВИЧ, в большинстве случаев необходим корецептор CCR5,

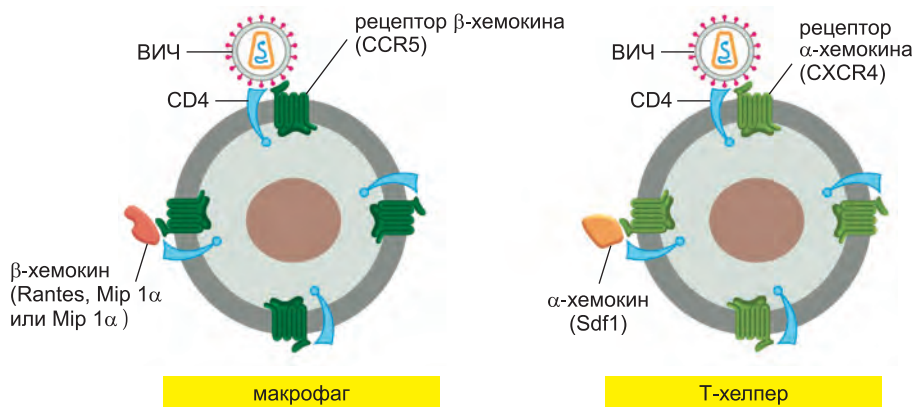


Рис. 24.23. Рецептор и корецепторы ВИЧ. Всем штаммам ВИЧ необходим белок CD4 в качестве первичного рецептора. На ранних стадиях инфекции большинство вирусов использует в качестве корецептора белок CCR5, позволяющий им осуществлять заражение макрофагов и их предшественников — моноцитов. По мере развития инфекции появляются мутантные формы вируса, которые уже используют в качестве корецептора белок CXCR4, позволяющий им эффективно заражать Т-хелперы. Естественный лиганд для рецепторов хемокинов (Sdf1 для CXCR4; Rantes, Mip 1α или Mip 1β для CCR5) блокирует работу корецепторов и препятствует вторжению вирусов.

чем, предположительно, и объясняется причина, по которой индивиды с дефектным геном *Ccr5* не восприимчивы к инфекции ВИЧ. На более поздних стадиях заражения вирусы могут или переключиться на использование корецептора CXCR4, или приспособиться к использованию обоих корецепторов; таким образом, по мере развития заболевания вирус может менять типы клеток, которые он инфицирует.

24.2.5. Вирионы проникают в клетки путем слияния мембран, образования пор или же разрыва мембраны

После узнавания и прикрепления к поверхности клетки-хозяина типичные следующие шаги для вириона — проникновение в клетку и высвобождение из защитного белкового капсида или липидной оболочки своего генома, представленного молекулой нуклеиновой кислоты. В большинстве случаев высвобожденная нуклеиновая кислота остается связанной с некоторыми вирусными белками. **Оболочечные вирусы** проникают в клетку хозяина путем слияния либо с плазматической мембраной, либо с мембраной эндосомы после эндоцитоза (рис. 24.24, а и б). Слияние, как полагают, протекает по механизму, который подобен опосредуемому SNARE слиянию внутриклеточных везикул в процессе нормального везикулярного транспорта (обсуждалось в главе 13).

Вирус осуществляет регуляцию слияния: во-первых, для гарантии того, что его частицы сливаются только с мембраной подходящей клетки хозяина, а во-вторых, чтобы не допустить слияния вирусных частиц друг с другом. У вирусов, таких как ВИЧ, которые сливаются с плазматической мембраной при нейтральном значении pH, связывание с рецепторами или корецепторами приводит к изменению конформации белка оболочки вируса, в результате чего пептид слияния, в норме не выступающий наружу, экспонируется на поверхности (см. рис. 13.16). Другие

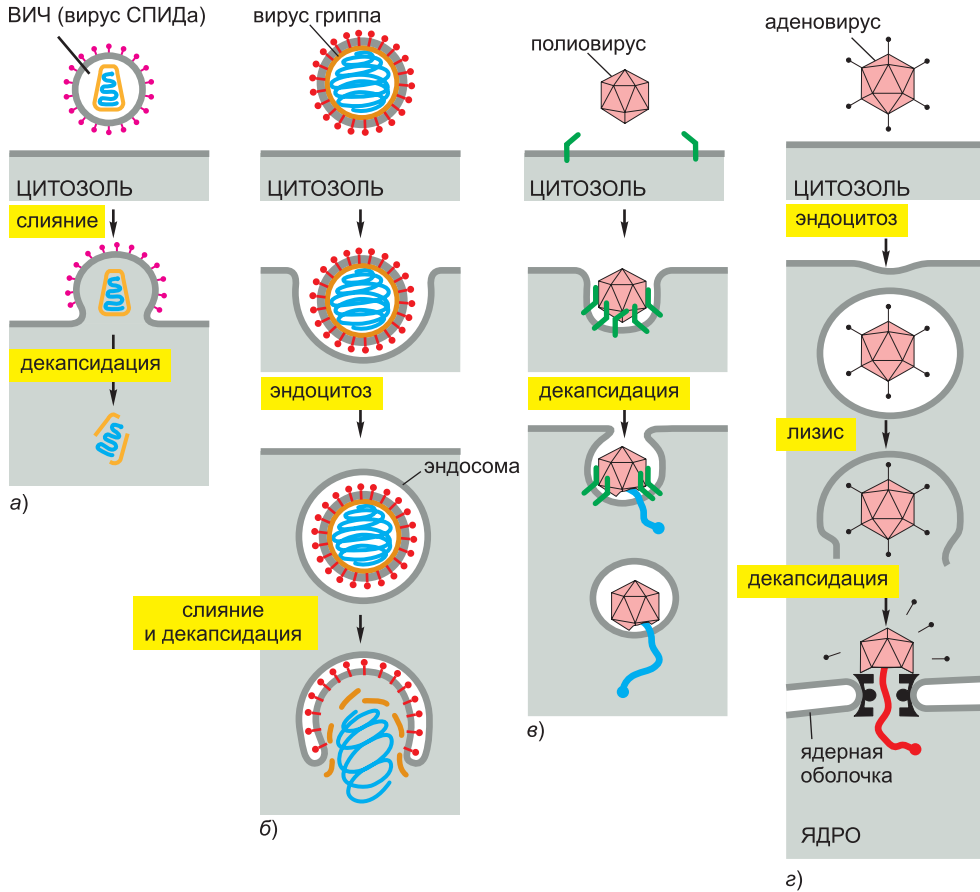


Рис. 24.24. Четыре стратегии декапсидации вируса. а) Некоторые вирусы с оболочкой, такие как ВИЧ, напрямую сливаются с плазматической мембраной клетки хозяина и выпускают в цитозоль свой геном (синий) и капсидные белки (оранжевые). б) Другие вирусы с оболочкой, такие как вирус гриппа, сначала связываются с рецепторами клеточной поверхности, запуская опосредуемый рецепторами эндоцитоз. Когда эндосома закисляется, оболочка вируса сливается с мембраной эндосомы и геном вируса (синий) вместе с его капсидными белками (оранжевые) попадает в цитозоль. в) Полиовирус, вирус без оболочки, связывается с рецептором (зеленый) на поверхности клетки хозяина и затем образует в ее мембране (не показано) пору, чтобы впустить через нее свой РНК-геном (синий). г) Аденовирус, еще один вирус без оболочки, использует более сложную стратегию. Он вызывает опосредуемый рецепторами эндоцитоз и затем разрушает мембрану эндосомы, выпуская часть капсида и свой ДНК-геном в цитозоль. «Усеченный» вирус в конечном счете состыковывается с ядерной порой и выпускает свою ДНК (красную) непосредственно в ядро.

вирусы с оболочкой, такие как вирус гриппа, сливаются с мембраной клетки хозяина только после эндоцитоза; в этом случае чаще всего именно кислая среда в ранней эндосоме вызывает изменение конформации поверхностного белка вируса, благодаря чему обычно находящийся внутри пептид слияния оказывается на поверхности (см. рис. 24.24, б). Ионы H^+ , «накачанные» в раннюю эндосому, попадают в частицу вируса гриппа через ионный канал и вызывают *декапсидацию* вирусной РНК, которая высвобождается прямо в цитозоль при слиянии вируса с мембраной эндосомы. У некоторых вирусов декапсидация происходит после выхода в цитозоль.

Например, для отделения капсидных белков вируса леса Семлики от его генома необходимо, чтобы с капсидом этого вируса связались рибосомы клетки хозяина.

Гораздо труднее представить, каким образом в клетки хозяина проникают **безоболочечные вирусы**, поскольку совершенно неясно, как крупные «агрегаты» из белка и нуклеиновой кислоты могут проходить через плазматическую мембрану или мембрану эндосомы. Вирусы без оболочки, механизм проникновения которых изучен, в основном либо образуют пору в мембране клетки, чтобы доставить вирусный геном в цитоплазму, либо разрушают мембрану эндосомы после эндоцитоза.

Полиовирус прибегает к первой из этих стратегий. Связывание полиовируса с соответствующим рецептором запускает и опосредуемый рецептором эндоцитоз, и изменение конформации вирусной частицы. В результате конформационного изменения на поверхности оказывается выступающая гидрофобная часть одного из капсидных белков, которая, очевидно, встраивается в мембрану эндосомы для образования поры. После этого вирусный геном через пору попадает в цитоплазму, оставляя капсид или в эндосоме, или на поверхности клетки, или и там и там (см. рис. 24.24, в).

Аденовирус использует вторую стратегию. Вначале он захватывается клеткой путем опосредуемого рецептором эндоцитоза. По мере того как эндосома созревает и ее pH становится все более кислым, вирус проходит многочисленные стадии декапсидации, в ходе которых из капсида вируса последовательно удаляются структурные белки. Для осуществления некоторых из этих операций необходимо действие вирусной протеазы, которая во внеклеточной вирусной частице является неактивной (вероятно, из-за внутрицепочечных дисульфидных связей), но активируется в восстановительной среде эндосомы. Один из белков, высвобождаемых из капсида вируса, лизирует мембрану эндосомы и оставшаяся часть вируса выходит в цитозоль. Такой «усеченный» вирус состыковывается с комплексом ядерной поры, и вирусный ДНК-геном транспортируется через пору в ядро, где и транскрибируется (см. рис. 24.24, г).

В этих разнообразных стратегиях проникновения вирусами используется целый спектр молекул и процессов клетки-хозяина, в числе которых могут фигурировать компоненты клеточной поверхности, опосредуемый рецептором эндоцитоз, стадии созревания эндосомы и ядерный транспорт. Эти стратегии в очередной раз иллюстрируют изощренные механизмы, выработанные патогенами в процессе эволюции с целью использовать основные биологические особенности клеток своих хозяев.

24.2.6. Бактерии проникают в клетки хозяина посредством фагоцитоза

Бактерии намного крупнее вирусов и потому не могут проникнуть в клетки ни через поры, ни через опосредуемый рецепторами эндоцитоз. Вместо этого они попадают внутрь клетки хозяина путем фагоцитоза. Фагоцитоз бактерий — нормальная функция макрофагов. Они патрулируют ткани организма, поглощая и уничтожая нежелательных микробов. Однако некоторые патогены выработали способность жить и размножаться внутри макрофагов после фагоцитоза.

Mycobacterium tuberculosis — один из таких патогенов. Как уже упоминалось, он вызывает **туберкулез** — серьезное инфекционное заболевание легких, распространенное среди некоторых слоев городского населения. Заражение туберкулезом обычно происходит, когда при вдыхании бактерия попадает в легкие, где она фагоцитируется альвеолярными макрофагами. Несмотря на то что этот микроб может жить и размножаться внутри макрофагов, с помощью системы приобретенного иммунитета у большинства здоровых индивидуумов инфекция сдерживается макрофагами в пределах очага поражения, названного *туберкулезной гранулемой*

(*туберкулезным бугорком, туберкулом*). В большинстве случаев очаг поражения окружается фиброзной капсулой (манжетой), которая со временем обызвествляется и может быть легко обнаружена на рентгенограмме легких. Что примечательно, *M. tuberculosis* могут оставаться живыми в таких очагах поражения на протяжении многих десятилетий и в более позднем возрасте, особенно если иммунная система будет ослаблена лекарствами или болезнью, привести к пробуждению инфекции и ее распространению в легких и, возможно, даже других органах.

В то время как туберкулез сопровождает человечество на протяжении тысячелетий, другая бактерия, живущая внутри альвеолярных макрофагов, впервые признана патогенной для человека лишь в 1976 г. *Legionella pneumophila* — в норме паразит пресноводных амёб, поглощающих ее фагоцитозом. Когда капельки воды, содержащие *L. pneumophila* или зараженных ею амёб, при вдыхании попадают в легкие, бактерии могут проникнуть в альвеолярные макрофаги и начать жить внутри них (рис. 24.25); должно быть, они напоминают бактериям крупных амёб. Эта инфекция вызывает особую форму пневмонии, известную как **болезнь легионеров (легионеллез)**. Патоген распространяется в основном через центральные системы кондиционирования воздуха, так как амёбы, естественные хозяева бактерий, приспособились колонизировать испарительные охладители кондиционеров; более того, такие системы охлаждения производят микрокапельки воды, которые легко вдыхаются. В последние десятилетия заболеваемость легионеллезом резко возросла, причем возникновение всплеск этого заболевания зачастую связано с системами кондиционирования в административных зданиях, больницах и гостиницах. В некоторых случаях причина кроется в других современных средствах аэролизации, таких как декоративные фонтаны и увлажнители продуктов в универсамах.

Некоторые бактерии проникают в клетки, которые в норме нельзя назвать фагоцитирующими. Один из способов, которым бактерии могут побудить такую клетку фагоцитировать их, — это экспрессировать адгезин, с высокой аффинностью связывающийся с белком клеточной адгезии хозяина, который клетка хозяина обычно использует для прикрепления к другой клетке хозяина или к внеклеточному матриксу (обсуждалось в главе 19). Например, вызывающая диарею бактерия *Yersinia pseudotuberculosis* (близкий родственник чумной бактерии *Yersinia pestis*) экспрессирует белок, называемый *инвазином*, который связывается с $\beta 1$ -интегринами, а бак-

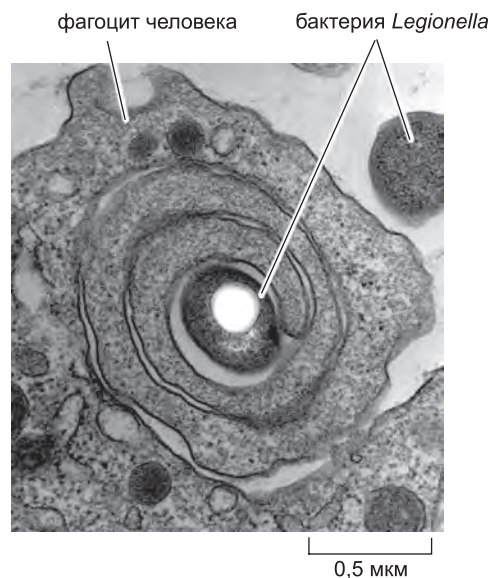


Рис. 24.25. Поглощенная фагоцитом человека *Legionella pneumophila*. На этом электронном микрофото- снимке видна необычная спиралевидная структура на поверхности фагоцита, образование которой индуцировано бактерией. Некоторые другие патогены, такие как бактерия *Borrelia burgdorferi*, вызывающая болезнь Лайма, патоген из надцарства эукариот *Leishmania* и дрожжи *Candida albicans*, также могут иногда проникать в клетки хозяина посредством фагоцитоза, происходящего по такому же механизму «обертывания». (Снимок заимствован из М. А. Horwitz, *Cell* 36: 27–33, 1984. С любезного разрешения Elsevier.)

терия *Listeria monocytogenes*, вызывающая редкую, но серьезную форму пищевого отравления, экспрессирует белок, который связывается с E-кадгеринами. Связывание бактериальных белков с такими трансмембранными белками адгезии клетки хозяина «вводит в заблуждение» клетку хозяина, и она предпринимает попытки образовать межклеточный контакт: актин и прочие компоненты клеточного скелета начинают перемещаться к участку прикрепления бактерии. Так как бактерия мала по сравнению с клеткой хозяина, попытка клетки хозяина распределиться по адгезивной поверхности бактерии приводит к фагоцитозному поглощению бактерии — процессу, механизм которого известен как *механизм поглощения типа застежки-молнии (zipper mechanism)* (рис. 24.26, а). Подобие этой формы проникновения естественному процессу клеточной адгезии обнаружилось, когда была определена трехмерная структура инвазина. В бактериальном белке есть RGD-мотив со структурой, почти идентичной RGD-мотиву интегрин-связывающего участка белка ламинина, белка внеклеточного матрикса (см. главу 19).

Второй способ проникновения бактерий в нефагоцитирующие клетки обусловлен использованием *триггерного механизма поглощения (trigger mechanism)* (рис. 24.26, б). Он применяется различными патогенами, в том числе и *Salmonella enterica*, вызывающей пищевое отравление. К реализации этой впечатляющей схемы проникновения бактерия приступает, вводя в цитоплазму клетки хозяина через систему секреции III типа набор эффекторных молекул. Некоторые из этих эффекторных молекул активируют GTPазы Rho семейства, которые стимулируют полимеризацию актина (обсуждалось в главе 16). Другие более непосредственно взаимодействуют с элементами цитоскелета, приводя к разъединению актиновые филаменты и вызывая реорганизацию белков, участвующих в образовании поперечных сшивок. Суммарный эффект всех этих действий — образование складок на строго ограниченном участке поверхности клетки-хозяина («рифление», сморщивания мембраны) (рис. 24.26, в), которые возвышаются в виде больших обогащенных актином выростов, смыкающихся над бактерией и захватывающих ее в крупный эндоцитозный пузырек, называемый *макропиносомой* (рис. 24.26, г). Общий внешний вид клеток, в которые проникли бактерии при помощи триггерного механизма, такой же, как при образовании складок, вызываемом некоторыми внеклеточными факторами роста; это наводит на мысль о том, что в обоих случаях активируются одни и те же внутриклеточные сигнальные пути.

24.2.7. Внутриклеточные паразиты эукариотического происхождения активно вторгаются в клетки хозяина

Энергию, необходимую для поглощения вирусов путем опосредуемого рецепторами эндоцитоза и бактерий путем фагоцитоза или макропиноцитоза, предоставляет клетка хозяина. Патоген выступает относительно пассивным участником и обычно служит лишь фактором, инициирующий процесс проникновения. В отличие от них, внутриклеточные паразиты эукариотического происхождения, которые обычно намного крупнее бактерий, проникают в клетки хозяина при помощи множества сложных способов, обычно требующих существенного расхода энергии со стороны самого паразита.

Примером служит *Toxoplasma gondii* — паразит кошачьих, который время от времени вызывает серьезные заболевания и у человека. При контакте с клеткой хозяина на поверхности этого представителя простейших начинает выступать необычная структура, образованная микротрубками, так называемый *коноид*, с помощью которого паразит медленно внедряется в клетку хозяина. Процесс проникновения,

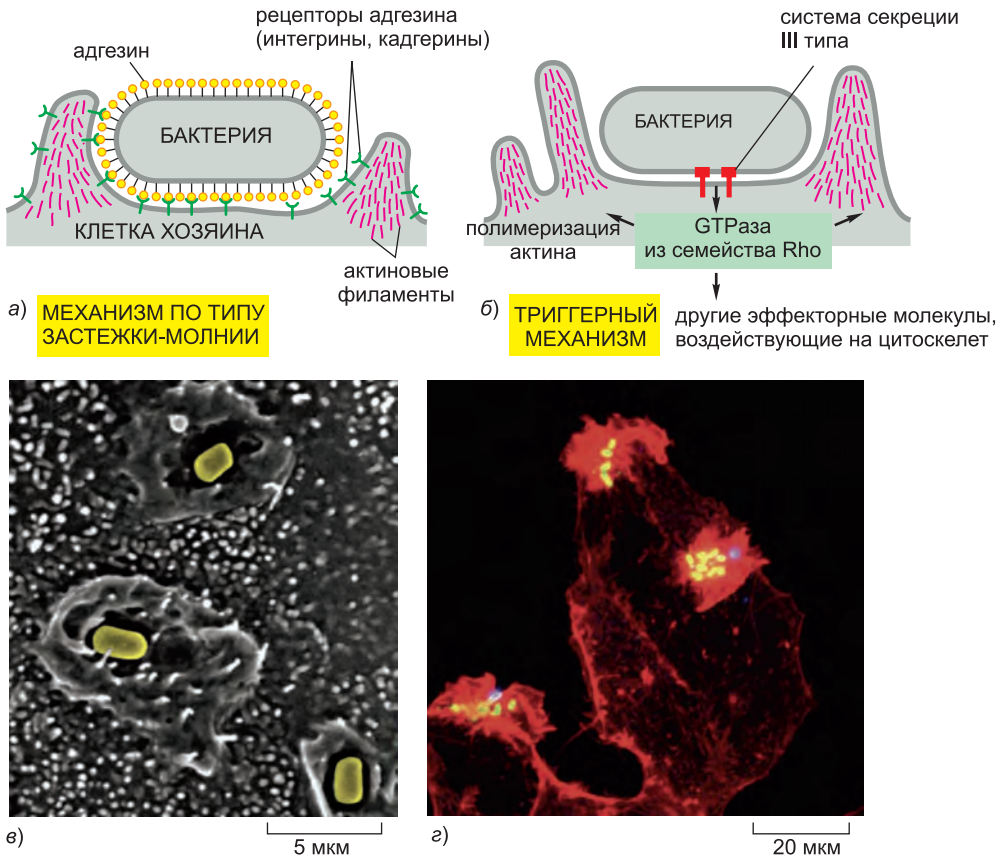


Рис. 24.26. Механизмы, с помощью которых бактерии индуцируют свое проникновение посредством фагоцитоза в нефагоцитирующие клетки хозяина. Полимеризация актина в области проникновения бактерии — обязательная стадия в процессе патоген-индуцированного фагоцитоза, осуществляемого как по механизму типа застежки-молнии (а), так и по триггерному механизму (б). в) На снимке, полученном с помощью сканирующего электронного микроскопа, представлена самая ранняя стадия проникновения *Salmonella enterica*, осуществляемого по триггерному механизму. Каждая из трех бактерий (на снимке выглядят желтыми) окружена небольшой складкой мембраны. г) На флуоресцентном микрофото- снимке видно, что в крупных выростах, охватывающих бактерий *Salmonella*, содержится много актина. Бактерии помечены зеленым, а актиновые нити — красным цветом; из-за наложения цветов бактерии выглядят желтыми. (Изображения заимствованы из J. E. Galan, *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 17: 53–86, 2001. С любезного разрешения Annual Reviews.)

по-видимому, полностью осуществляется за счет усилий паразита, а ему для этого необходима работа по крайней мере одного белка, очень необычного миозина (XIV класса; см. рис. 16.57); деполимеризация актинового цитоскелета паразита (но не клетки хозяина) приводит к остановке этого процесса. По мере того как паразит внедряется в клетку хозяина, он постепенно окружается мембраной, образующейся в результате инвагинации плазматической мембраны клетки-хозяина. Что примечательно, по мере формирования окружающей паразита мембраны он каким-то образом удаляет из нее трансмембранные белки хозяина, в результате чего внутри ограниченного мембраной компартмента паразит оказывается защищенным,

так как компартмент не сливается с лизосомами и не участвует в осуществляемых клеткой хозяина процессах круговорота мембран (membrane trafficking) (рис. 24.27). Специализированная мембрана позволяет паразиту поглощать из цитозоля клетки-хозяина промежуточные продукты метаболизма и питательные вещества, но не пропускает более крупные молекулы. Малярийные плазмодии проникают в красные клетки крови с помощью весьма похожего механизма.

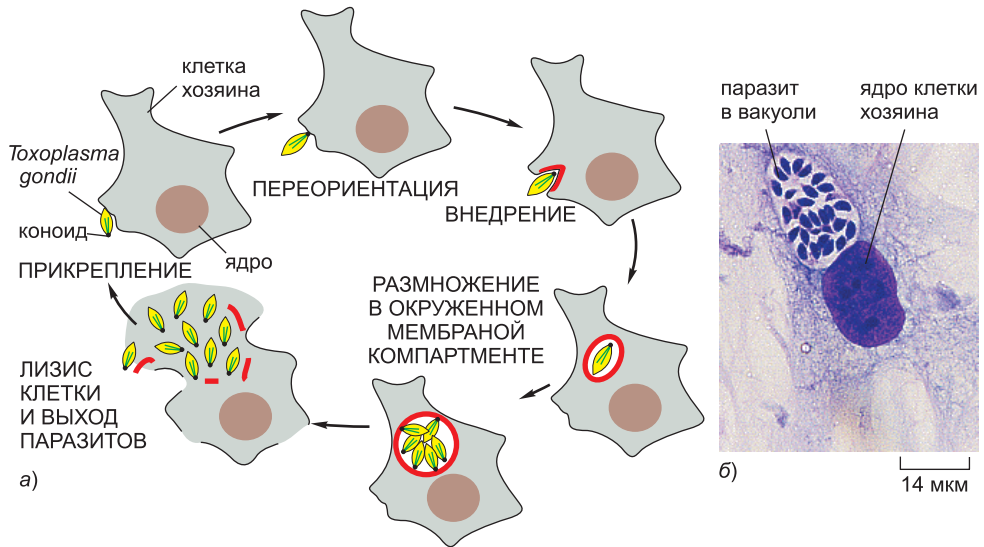


Рис. 24.27. Жизненный цикл внутриклеточного паразита *Toxoplasma gondii*. а) После прикрепления к клетке хозяина *T. gondii* внедряется с помощью своего коноида в клетку хозяина. По мере того как плазматическая мембрана клетки-хозяина «впячивается», окружая со всех сторон паразита, паразит каким-то образом удаляет белки клетки хозяина, характерные для нормальных эндосом или фагосом, а это приводит к тому, что компартмент (обозначенный красным цветом) не сливается с лизосомами. После нескольких раундов репликации паразита происходит разрушение компартмента и лизис клетки хозяина, при этом потомство паразита оказывается во внеклеточном пространстве, находясь в котором они могут заражать очередные клетки хозяина. б) Световой микрорентгоснимок *T. gondii*, размножающейся в пределах ограниченного мембраной компартмента в культивируемой клетке. (Снимок б любезно предоставлен Manuel Camps и John Boothroyd.)

Представитель простейших *Trypanosoma cruzi*, который обитает преимущественно в Мексике и Центральной и Южной Америке и возбуждает мультиорганный болезнью — американский трипаносомоз (болезнь Чагаса), использует совершенно иную, однако не менее оригинальную стратегию проникновения. После прикрепления к рецепторам клеточной поверхности клетки хозяина, этот паразит индуцирует локальное увеличение концентрации ионов Ca^{2+} в цитозоле клетки-хозяина. Ca^{2+} привлекает к участку прикрепления паразитов лизосомы, которые сливаются с плазматической мембраной клетки, находящейся в процессе интернализации, предоставляя паразитам быстрый доступ в полость лизосом (рис. 24.28). Как мы обсудим позже, большинство внутриклеточных патогенов делают все возможное, чтобы избежать действия враждебной, протеолитической среды лизосомы, а *Trypanosoma cruzi* использует лизосому как средство проникновения. Находясь в полости лизосомы, паразит секретирует фермент, который переносит сиаловую кислоту

с гликопротеинов лизосомы на молекулы на поверхности паразита, таким образом паразит покрывается углеводными цепями клетки-хозяина. Затем паразит секретирует порообразующий токсин, который разрушает мембрану лизосомы, что приводит к попаданию паразита в цитозоль клетки хозяина, где он и размножается.



Рис. 24.28. Проникновение *Trypanosoma cruzi* в клетки хозяина. Этот паразит привлекает к участку своего прикрепления лизосомы клетки хозяина. Лизосомы сливаются с впячивающейся внутрь плазматической мембраной, создавая внутриклеточную полость, почти полностью образованную из мембран лизосом. После краткого пребывания в полости паразит секретирует порообразующий белок, который разрушает окружающую мембрану, позволяя паразиту выйти в цитозоль клетки-хозяина и размножиться.

Микроспоридии используют самый, наверное, причудливый из активных механизмов проникновения. Эти крошечные облигатные внутриклеточные паразиты, относящиеся к надцарству эукариот, имеют всего лишь около 5 мкм в длину, а их геном — один из наименьших среди известных эукариотических геномов (всего 2 900 000 п. н.). Как правило, микроспоридии вызывают болезни преимущественно у насекомых, но могут также вызывать оппортунистические инфекции у людей, больных СПИДом. Приспособившись за длительный период времени к паразитическому образу жизни, они стали зависеть от своих клеток-хозяев в отношении некоторых метаболических функций и утратили многие гены и клеточные структуры, необходимые всякому свободноживущему организму; так, у них больше нет митохондрий и пероксисом. Однако у них есть необычный аппарат экструзии (внедрения) — полярная трубка, с помощью которой они проникают в клетки хозяина. На стадии жизненного цикла — стадии споры, устойчивой к факторам внешней среды, — полярная трубка микроспоридии спирально свернута вокруг ядра (рис. 24.29, а). При контакте с подходящей клеткой хозяина полярная трубка внезапно выбрасывается, разматываясь менее чем за 2 секунды, образуя зрелую структуру, длина которой может в десять раз превосходить длину споры. Кончик выстреливающей полярной трубки, продвигаясь со скоростью 100 мкм в секунду, пронзает клетку хозяина и доставляет (очевидно, за счет осмотического давления) внутреннее содержимое споры, включая ядро микроспоридии, в цитоплазму клетки, где паразит размножается, порождая до ста потомков (рис. 24.29, б и в). Со временем потомство превращается

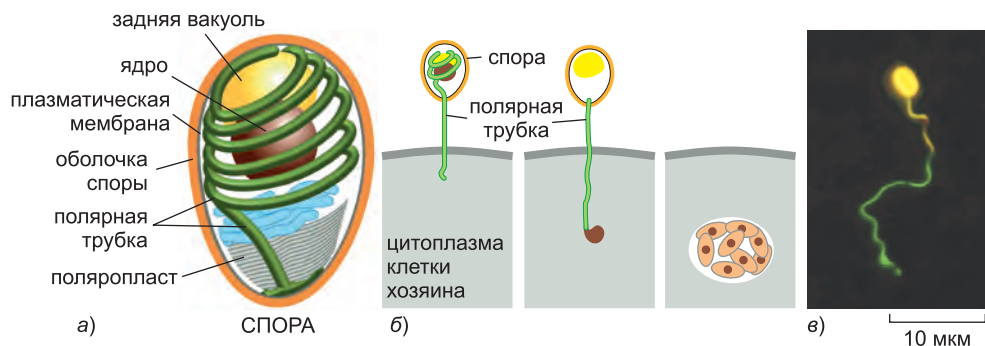


Рис. 24.29. Проникновение микроспоридий в клетки хозяина. а) На стадии споры паразит покрыт твердой оболочкой, внутри него находится спирально свернутая полярная трубка, множеством витков которой окружено ядро. б) Когда спора входит в контакт с подходящей хозяйской клеткой, полярная трубка внезапно выдвигается, пронзает клетку и доставляет в ее цитоплазму ядро и прочее содержимое споры. После этого микроспоридия начинает размножаться в клетке-хозяине. в) Иммунофлуоресцентный микрофотоснимок споры микроспоридии *Encephalitozoon cuniculi*. Те части споры, которые находятся вне клетки-хозяина, окрашены *желтым* цветом, а те, что находятся внутри клетки, — *зеленым*. Выброшенная полярная трубка меняет цвет с желтого на зеленый в точке, где она входит в клетку-хозяина (не видна). (Снимок взят из С. Franzen, *Trends Parasitol.* 20: 275–279, 2004. С любезного разрешения Elsevier.)

в споры, и клетка-хозяин разрушается, высвобождая их. Споры микроспоридии достаточно малы, так что макрофаги могут их фагоцитировать. Когда это происходит, полярные трубки спор выбрасываются за пределы фагосом, снова доставляя свое содержимое в цитозоль клетки хозяина.

24.2.8. Многие патогены вносят изменения в мембранный транспорт клетки-хозяина

В трех только что приведенных примерах внутриклеточных паразитов отражена проблема, общая для всех внутриклеточных патогенов, включая вирусы, бактерии и паразитические эукариоты. Всем им так или иначе приходится иметь дело с процессом мембранного транспорта (membrane traffic) в клетке хозяина. Будучи поглощенными клеткой-хозяином посредством эндоцитоза, они обычно оказываются в эндосомной полости, которой предстоит слиться с лизосомами и стать *фаголизосомой*. В связи с этим паразитам необходимо либо видоизменить полость так, чтобы не допустить ее слияния с лизосомами, либо выйти из полости перед таким слиянием, либо покинуть после слияния, но до того, как они будут переварены, либо же найти способы жить во враждебной среде фаголизосомы (**рис. 24.30**).

Большинство патогенов использует первую или вторую стратегию. Как мы видели, *Trypanosoma cruzi* придерживается стратегии выхода из эндосомы, как и фактически все вирусы (см. рис. 24.24). Бактерия *Listeria monocytogenes* также использует этот путь. Она проникает в клетки, используя механизм типа застежки-молнии, рассмотренный нами ранее, и секретирует белок, названный *листериолизин О*, который образует в мембране фагосомы крупные поры, позволяя бактериям выходить в цитозоль прежде, чем возникает опасность их переваривания. Оказавшись в цитозоле, бактерии продолжают секретировать листериолизин О, но он не уничтожает другие плазматические мембраны, этому есть два объяснения:

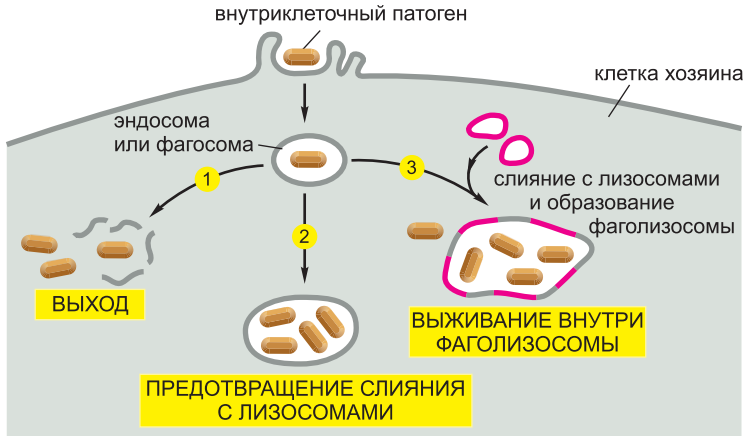


Рис. 24.30. Варианты, с выбором одного из которых сталкиваются внутриклеточные патогены. После попадания в клетку-хозяина, как правило, в ограниченную мембраной полость, посредством эндоцитоза или фагоцитоза, внутриклеточные патогены могут прибегнуть к одной из трех стратегий, для того чтобы выжить и размножиться. К патогенам, которые следуют 1-й стратегии, относятся все вирусы, *Trypanosoma cruzi*, *Listeria monocytogenes* и *Shigella flexneri*. Бактерии *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella enterica*, *Legionella pneumophila* и протист *Chlamydia trachomatis* придерживаются 2-ой стратегии. Среди избравших 3-ю стратегию — *Coxiella burnetii* и *Leishmania*.

во-первых, в цитозоле, при нейтральном значении рН, он в 10 раз менее активен, чем в кислой среде фагосомы; во-вторых, в цитозоле он быстро подвергается деградации в протеасомах клетки хозяина (см. рис. 6.80), которые не имели доступа к листериолизину О, пока тот находился в фагосоме (рис. 24.31).

Если патоген хочет жить и размножиться в ограниченном мембранной компартменте клетки-хозяина, то он должен модифицировать механизмы транспортировки в мембране (membrane trafficking) клетки, сделать это можно разными способами. Патогену необходимо модифицировать этот компартмент по крайней мере по двум



Рис. 24.31. Избирательное разрушение бактерией *Listeria monocytogenes* мембраны фагосомы. *L. monocytogenes* связывается с находящимся на поверхности эпителиальных клеток E-кадгерином и индуцирует свое проникновение, используя механизм типа застежки-молнии (см. рис. 24.26, а). Находясь внутри фагосомы, бактерия секретирует гидрофобный белок листериолизин О, который олигомеризуется в мембране клетки-хозяина и тем самым образует в ней крупные поры, что в конечном счете приводит к разрушению мембраны. Оказавшись в цитозоле клетки, бактерии начинают размножаться и продолжают секретировать листериолизин О. Так как в цитозоле листериолизин О подвергается быстрой деградации протеасомами, плазматическая мембрана клетки-хозяина остается неповрежденной.

позициям: надо, во-первых, предотвратить слияние лизосомами, а во-вторых, обеспечить путь для импорта питательных веществ из цитозоля хозяина. Вдобавок к этому многие патогены (в частности, вирусы) изменяют транспортные пути мембран с целью предотвратить презентацию своих специфических, чужеродных для клетки-хозяина, антигенов на ее поверхности; в противном случае Т-клетки могут обнаружить присутствие патогена и убить клетку-хозяина (будет рассмотрено в главе 25).

Различные патогены прибегают к различным стратегиям изменения хозяйского мембранного транспорта (рис. 24.32). Как мы уже знаем, *Toxoplasma gondii* создает окруженную мембраной полость (компармент), которая не участвует в естественном процессе мембранного транспорта хозяйской клетки, а избирательно осуществляет импорт питательных веществ. *Mycobacterium tuberculosis* каким-то образом препятствует на самой ранней стадии созреванию эндосомы, в которой она находится, так что внутренняя среда эндосомы никогда не окисляется, а сама эндосома не приобретает черт, характерных для поздней эндосомы или лизосомы.

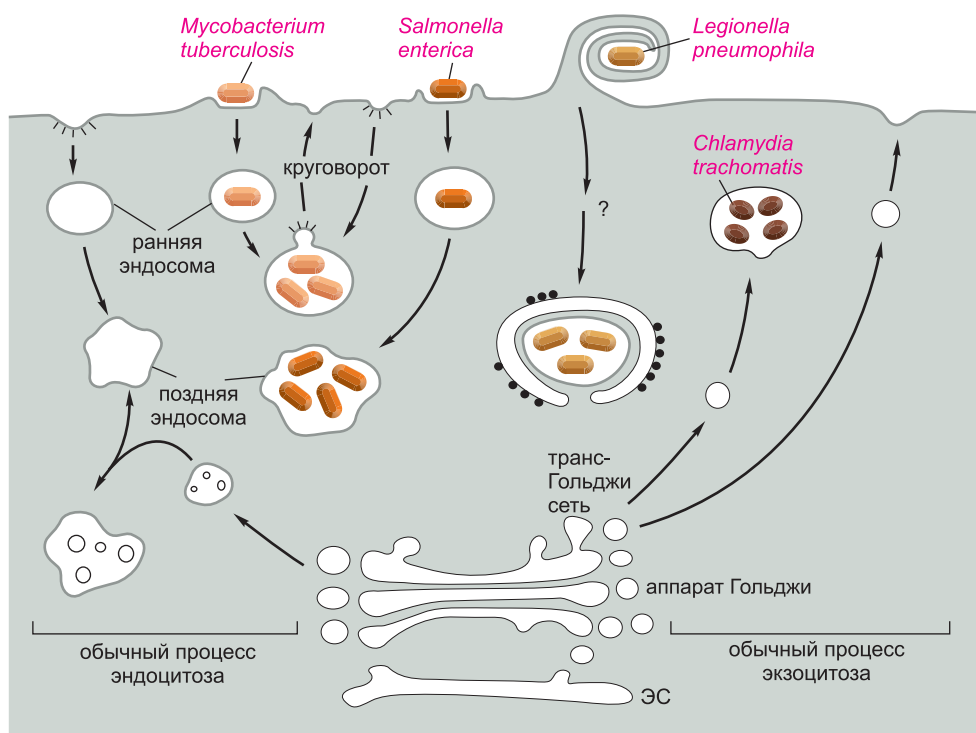


Рис. 24.32. Модификации, вносимые патогенами бактериальной природы в процессы мембранного транспорта клетки-хозяина. Четыре внутриклеточных патогена бактериальной природы — *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella enterica*, *Legionella pneumophila* и *Chlamydia trachomatis* — размножаются в ограниченных мембранной полостях, но полости эти различны. *M. tuberculosis* остается в полости, которая имеет признаки, характерные для ранней эндосомы, и продолжает сообщаться с плазматической мембраной посредством транспортных пузырьков. *S. enterica* размножается в полости, которая имеет признаки, характерные для поздней эндосомы, и не сообщается с плазматической мембраной. *L. pneumophila* размножается в необычной полости, которая окружена несколькими слоями мембраны гранулярной эндоплазматической сети (ЭС); для простоты показан только один слой. *C. trachomatis* размножается в экзоцитозной полости, которая сливается с везикулами, поступающими от транс-Гольджи сети.

Внутренняя среда эндосом, в которых находится *Salmonella enterica*, напротив, окисляется, эндосомы приобретают признаки, характерные для поздних эндосом, но их созревание останавливается на стадии, предшествующей слиянию с лизосомами. Другие бактерии, по-видимому, находят убежище во внутриклеточных полостях, которые в корне отличаются от полостей, принимающих участие в обычном процессе эндоцитоза. Например, *Legionella pneumophila* размножается в полостях, окруженных слоями гранулярной эндоплазматической сети (рис. 24.33). *Chlamydia trachomatis* — передающийся половым путем патоген бактериальной природы, который может вызвать бесплодие и слепоту, — размножается в полости, напоминающей компартмент, характерный для одного из этапов процесса экзоцитоза. Некоторые внутриклеточные патогены бактериальной природы, по-видимому, способны управлять местоположением других окруженных мембраной органелл, не находящихся в прямом физическом контакте с их собственной полостью. Например, поздние эндосомы, в которых находится *Salmonella*, обычно обнаруживаются в непосредственной близости к аппарату Гольджи (рис. 24.34). Механизмы, используемые этими организмами для модификации своих окруженных мембраной полостей и изменения прочих аспектов процесса мембранного транспорта в клетке хозяина, все еще плохо изучены.

Вирусы тоже часто вносят изменения в процесс мембранного транспорта клетки-хозяина. Оболочечным вирусам необходимо обеспечить себя мембраной, состоящей из фосфолипидов хозяйской клетки. В простейших случаях кодируемые вирусом

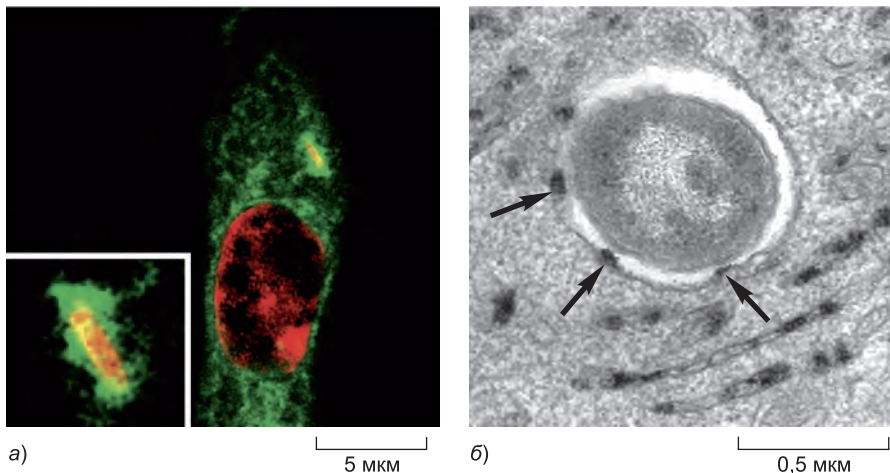


Рис. 24.33. Слияние мембраны эндоплазматической сети (ЭС) клетки-хозяина с внутриклеточными патогенами бактериальной природы. *а)* Вскоре после заражения *Legionella pneumophila* эндоплазматическая сеть клетки хозяина (зеленая) привлекается для окружения находящейся внутри клетки бактерии. ДНК бактерии и клетки-хозяина помечены красным цветом. На вставке показана тесная связь между ЭС и бактерией. *б)* *Brucella abortus* — грамотрицательная бактерия, которая может стать причиной преждевременных родов у крупного рогатого скота, также размножается внутри сопряженной с ЭС полости. На этом электронном микроснимке черные пятна внутри ЭС говорят о присутствии специфического для ЭС фермента глюкозо-6-фосфатазы. Черные стрелки показывают на скопления фермента на окружающей бактерию мембране, свидетельствуя о том, что бактерия слилась непосредственно с ЭС. (Фото *а* взято из J. C. Kagan and C. R. Roy, *Nat. Cell Biol.* 4: 945–954, 2002. С любезного разрешения Macmillan Publishers Ltd.; снимок *б* заимствован из J. Celli and J. P. Gorvel, *Curr. Opin. Microbiol.* 7: 93–97, 2004. С любезного разрешения Elsevier.)

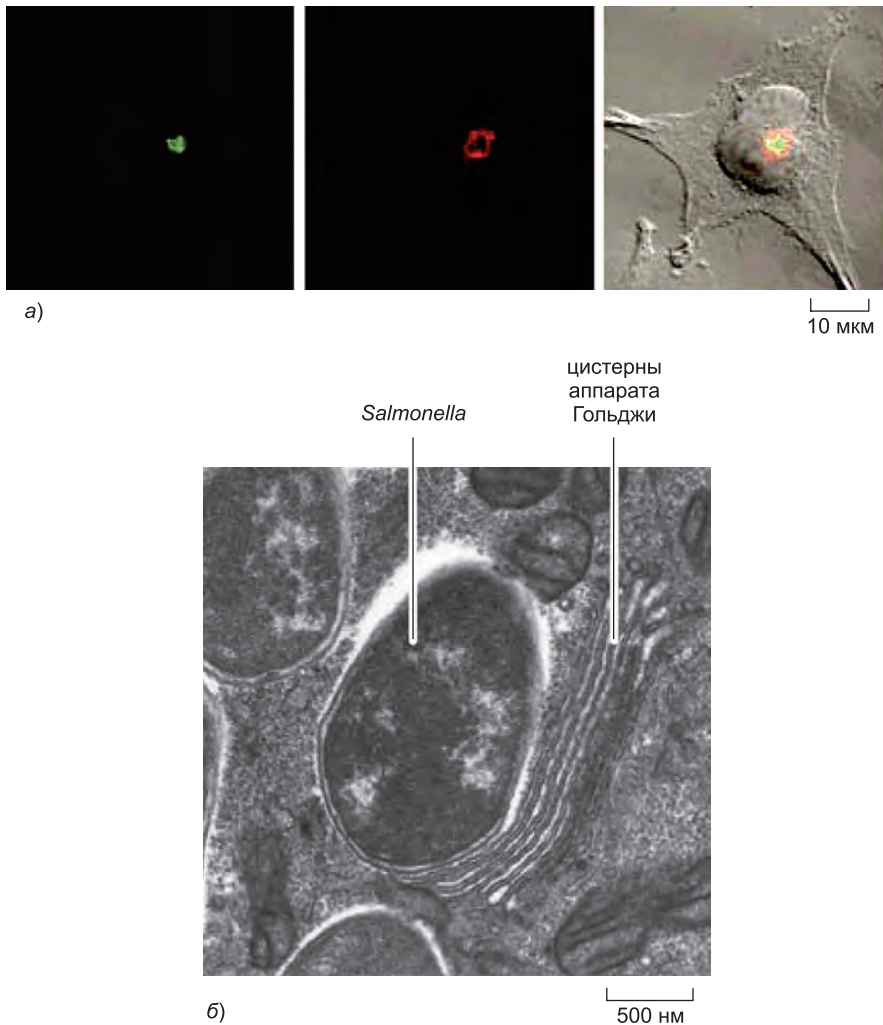


Рис. 24.34. Близкое прилегание стопок аппарата Гольджи к эндосомам, содержащим *Salmonella enterica*. а) В этой зараженной клетке бактерии окрашены *зеленым* цветом, а аппарат Гольджи помечен (*красными*) антителами к специфическому для аппарата Гольджи структурному белку. б) На электронном микрофотоснимке наблюдается очень близкое расположение стопки аппарата Гольджи и поздней эндосомы с бактерией. (Изображения заимствованы из S. P. Salcedo and D. W. Holden, *EMBO J.* 22: 5003–5014, 2003. С благосклонного позволения издательства Macmillan Publishers Ltd.)

белки встраиваются в мембрану эндоплазматической сети и следуют обычным путем через аппарат Гольджи к плазматической мембране, по пути претерпевая различные посттрансляционные модификации. Затем капсид и геном вируса объединяются около плазматической мембраны и отпочковываются от поверхности клетки. Это один из механизмов, его использует ВИЧ. Другие вирусы с оболочкой сложными способами влияют на пути перемещения мембран в клетке хозяина (рис. 24.35). Даже некоторые вирусы без оболочки вносят изменения в мембранный транспорт клетки-хозяина, преследуя свои собственные цели. Например, репликацию по-

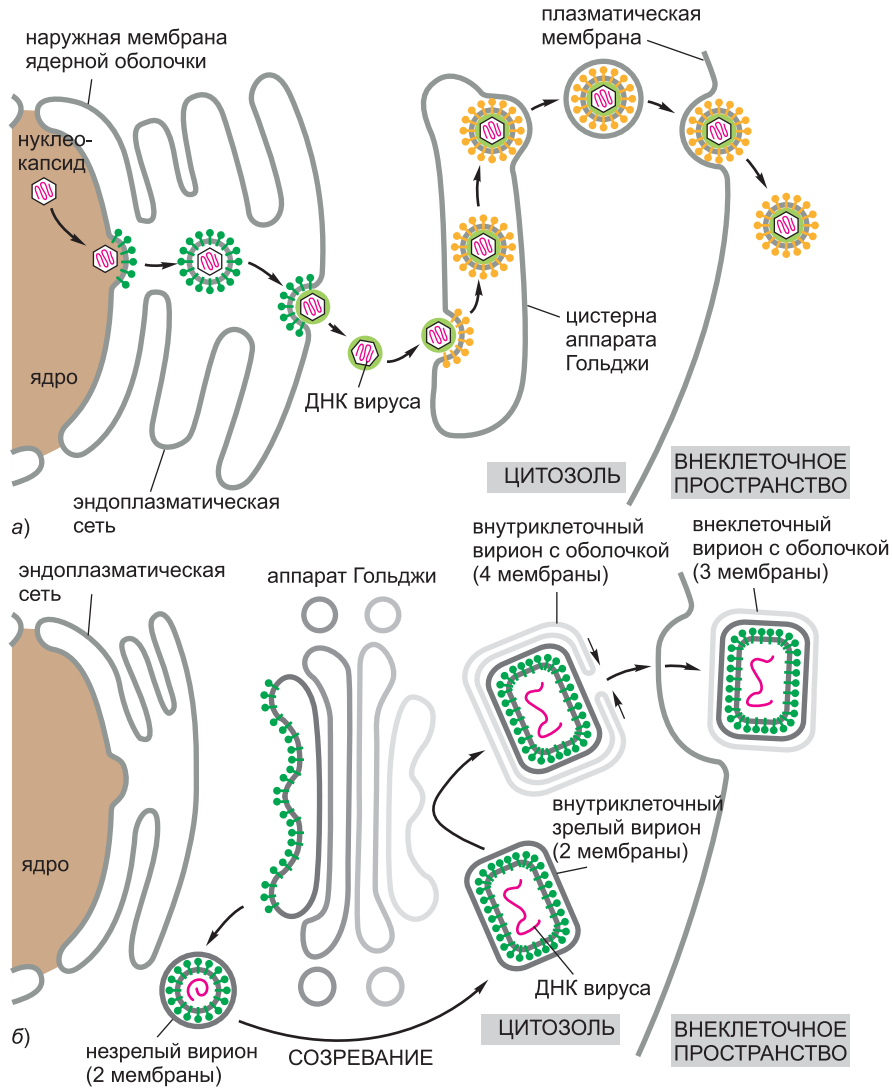


Рис. 24.35. Сложные стратегии приобретения вирусом оболочки. а) Нуклеокапсиды вируса герпеса собираются в ядре и затем выделяются через внутреннюю ядерную мембрану в пространство между внутренней и наружной ядерными мембранами, приобретая мембранную оболочку. Далее вирусные частицы, очевидно, теряют эту оболочку, когда сливаются с наружной ядерной мембраной, чтобы выйти в цитозоль. Впоследствии эти нуклеокапсиды «впечатываются» в аппарат Гольджи и снова отпочковываются с другой стороны, приобретая две новые мембранные оболочки. Затем наружная мембрана вируса сливается с плазматической мембраной клетки и от нее отпочковывается обладатель уже одинарной мембраны. б) Вирус коровьей оспы (состоящий в близком родстве с вирусом, который возбуждает оспу и используется при вакцинации от этой болезни) собирается на «репликационных фабриках» в цитозоле, вдали от плазматической мембраны. Сначала собирается структура, которая содержит две мембраны, приобретенные от аппарата Гольджи с помощью установленного механизма упаковки. Затем некоторые из этих вирусных частиц охватываются мембранами, заимствуемыми у второй внутриклеточной окружающей мембранной полости; такие вирусные частицы имеют в итоге четыре слоя мембраны. После слияния с плазматической мембраной клетки вирус покидает ее, обернутый тремя мембранными слоями.

лиовируса осуществляет им же кодируемая мембраносвязанная РНК-полимераза. Если площадь поверхности мембраны клетки-хозяина увеличится, то репликация вируса будет протекать быстрее. Чтобы достичь этого, вирус вызывает повышенный синтез мембранных липидов в клетке и блокирует их перенос с частью мембран из ЭС. Таким образом, мембрана ЭС разрастается и площадь поверхности, на которой может происходить репликация вирусной РНК, увеличивается (**рис. 24.36**). Многие патогены вирусной природы и некоторые патогены бактериальной природы зачастую обнаруживаются в тесной связи с аутофагосомами, образующимися в результате аутофагии (рассмотрено в главе 13). В большинстве случаев неясно, сама ли клетка хозяина инициирует индукцию аутофагии в качестве защитной реакции или вторгшийся патоген запускает ее для содействия своей репликации.

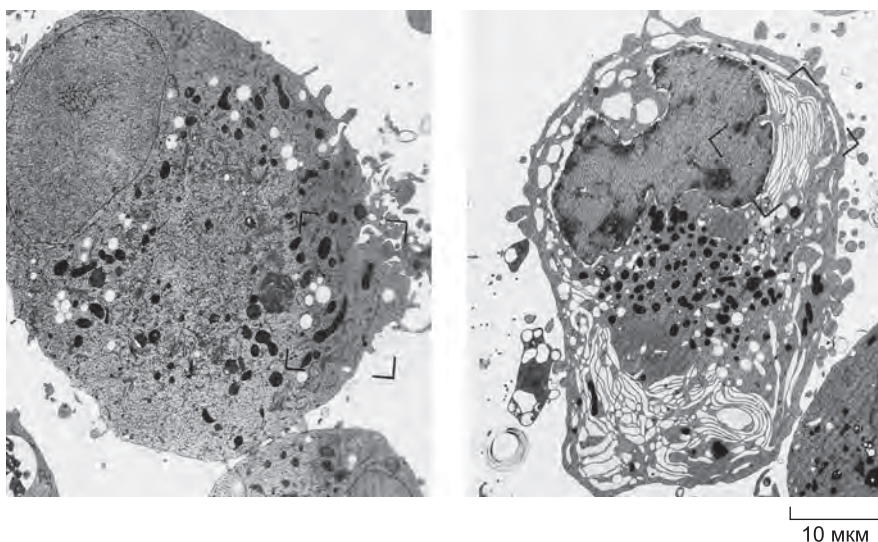


Рис. 24.36. Изменения внутриклеточных мембран, вызванные белком полиовируса. Как и всякий вирус с геномом, представленным однонитевой РНК, полиовирус реплицирует свой РНК-геном с помощью полимеразы, связывающейся с внутриклеточными мембранами. Несколько белков, кодируемых его геномом, изменяют структуру или динамическое поведение окруженных мембраной органелл клетки хозяина. На этих электронных микрофотографиях показана не подвергшаяся трансфекции клетка обезьяны (*слева*) и клетка того же типа, которая экспрессирует трансген, кодирующий белок 3А полиовируса (*справа*). В претерпевшей трансфекцию клетке ЭС разросшаяся, потому что кодируемый трансгеном белок тормозит перенос мембран из ЭС в аппарат Гольджи. (Снимки заимствованы из J.J.R. Doedens, T.H. Giddings Jr. and K. Kirkegaard, *J. Virol.* 71: 9054–9064, 1997.)

24.2.9. Вирусы и бактерии для передвижения внутри клетки используют цитоскелет клетки хозяина

Цитоплазма клеток млекопитающих чрезвычайно вязкая. Она полна органелл и пронизана сетью филаментов цитоскелета; все это препятствует диффузии частиц размером с бактерию или капсид вируса. Чтобы достигнуть определенной области клетки, для прохождения хотя бы части своего репликативного цикла, патоген должен активно передвигаться. Для активного передвижения, как и в случае перемещения внутри внутриклеточных органелл, патогенами, как правило, используется цитоскелет клетки хозяина.

Некоторые бактерии, размножающиеся в цитозоле клетки хозяина (а не в окруженных мембраной компартментах), выработали замечательный механизм перемещения, основанный на полимеризации актина. Такие бактерии, в числе которых *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri*, *Rickettsia rickettsii* (возбудитель пятнистую лихорадку Скалистых гор), *Burkholderia pseudomallei* (вызывает мелиоидоз, или ложный сибирский чум, пневмоэнтерит) и *Mycobacterium marinum* (родственник бактерии, вызывающей туберкулез), индуцируют образование (нуклеацию) и рост актиновых филаментов клетки хозяина на одном из полюсов бактерии. Растущие нити представляют собой мощную силу, толкающую бактерию через цитоплазму со скоростью до 1 мкм/с. На заднем конце происходит сборка новых нитей, которые остаются позади, подобно следу ракеты, по мере продвижения бактерии вперед, деполимеризуясь через минуту или около того под действием имеющихся в цитозоле деполимеризующих факторов. Когда движущаяся бактерия достигает плазматической мембраны, она продолжает двигаться по направлению из клетки, что приводит к образованию на поверхности клетки хозяина длинного тонкого выроста, в верхней части которого находится бактерия. Чаще всего такой вырост поглощается соседней клеткой, что позволяет бактерии оказаться в цитоплазме соседней клетки, не выходя во внеклеточную среду, таким образом избежав опознавания антителами, выработанными системой приобретенного иммунитета хозяина (рис. 24.37).

У некоторых микроорганизмов определен молекулярный механизм индуцированной патогеном полимеризации актина. У разных патогенов эти механизмы различны, что позволяет предположить, что они эволюционировали независимо друг от друга. Хотя все патогены задействуют один и тот же регуляторный путь клетки хозяина, в норме контролирующей зарождение (нуклеацию) актиновых филаментов, их воздействие нацелено на разные звенья этой системы. Как обсуждалось в главе 16, активация определенными внеклеточными сигналами маленькой GTPазы Cdc42 ведет к активации белка N-WASp, который, в свою очередь, активирует комплекс ARP, служащий матрицей, на которой происходит образование новых актиновых филаментов. Поверхностный белок *L. monocytogenes* для того, чтобы инициировать формирование актинового хвоста, напрямую связывается с комплексом ARP и активирует его. *B. pseudomallei* и *R. rickettsii* используют подобную стратегию, хотя последовательности активирующих белков отличаются у этих трех патогенов. В отличие от них, у *S. flexneri* поверхностный белок, неродственный вышеупомянутым, связывается с белком N-WASp и активирует его, а тот уже, в свою очередь, активирует комплекс ARP. Примечательно, что вирус коровьей оспы использует еще один механизм внутриклеточного перемещения, основанный на индукции полимеризации актина, хотя воздействует на тот же регуляторный путь (рис. 24.38).

Другие патогены в вопросах передвижения внутри клетки хозяина прежде всего полагаются на перенос, опосредованный микротрубочками. Вирусы, инфицирующие нейроны, используют такой способ передвижения. Хорошим примером служат *нейротропные альфа-герпес вирусы*, в группу которых входит и вирус, возбуждающий ветряную оспу. Вирус проникает в чувствительные (сенсорные) нейроны через концевые области их аксонов, и система основанного на микротрубочках транспорта несет его нуклеокапсиды вниз по аксону к ядру нейрона, что, очевидно, сопряжено с прикреплением белков капсида к молекулярному мотору-белку динеину. После репликации и сборки в ядре вирион с оболочкой транспортируется по микротрубочкам аксона в направлении от тела нейрона, что обусловлено прикреплением какого-то другого компонента оболочки вируса к моторному белку кинезину (рис. 24.39).

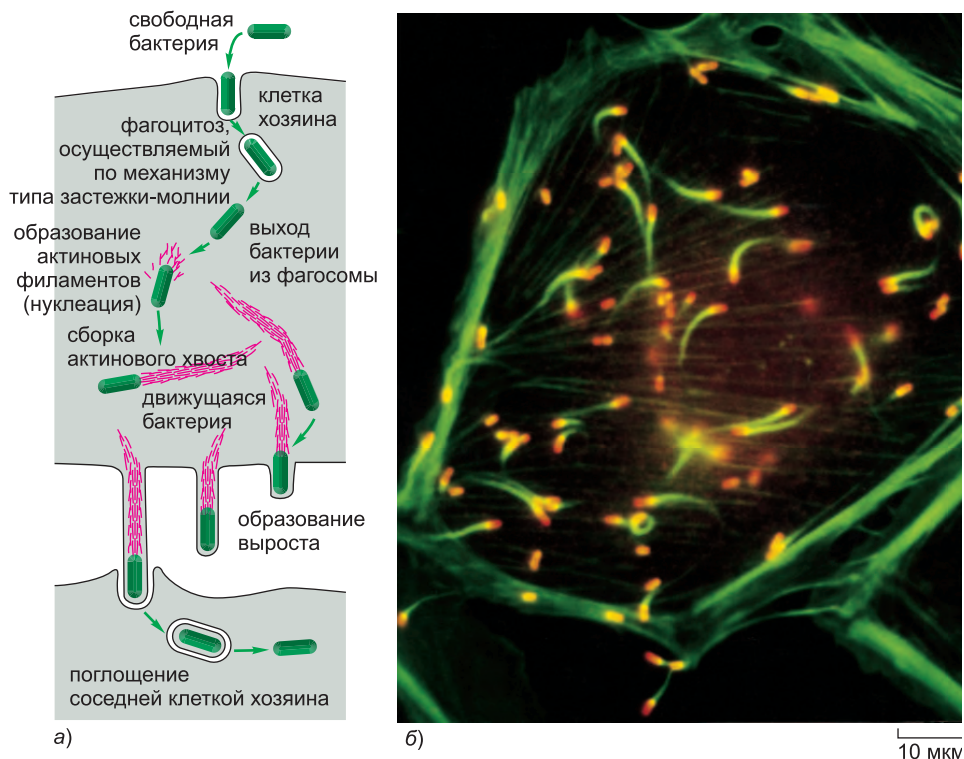


Рис. 24.37. Опосредованное актиновыми нитями передвижение *Listeria monocytogenes* внутри клеток хозяина и между ними. *а)* Эти бактерии в цитоплазме клетки-хозяина индуцируют сборку обогащенных актинового хвоста, что позволяет бактерии быстро передвигаться. Движущиеся бактерии распространяются от клетки к клетке посредством образования окруженных мембраной выпячиваний, которые, в свою очередь, поглощаются соседними клетками. *б)* Флуоресцентный микроснимок движущихся в клетке бактерий; за счет окрашивания препарата бактерии видны в красном цвете, а актиновые нити — в зеленом. Обратите внимание на подобный хвосту кометы хвост из актиновых филаментов позади каждой движущейся бактерии. Области наложения красной и зеленой флуоресценции выглядят желтыми. (Снимок *б* любезно предоставлен Julie Theriot и Tim Mitchison.)

Большое число вирионов, включая вирионы ВИЧ, вируса бешенства, вируса гриппа, аденовируса, собачьего парвовируса и вируса осповакцины (родственника натуральной оспы, используемого для вакцинации), как недавно было показано, на некоторой стадии своего размножения связывается с моторными белками динеином или кинезином и подвергается направленному передвижению по микротрубочкам. Первичная функция системы микротрубочек, присущей клеткам эукариот, — служить направляющими фарватерами мембранного транспорта; так что не удивительно, что многие вирусы независимо друг от друга развили в себе способность использовать эти транспортные системы для улучшения своего размножения.

Одна из бактерий, о которой известно, что она связывается с микротрубочками, — *Wolbachia*. Этот замечательный род включает много видов, представители которых — паразиты или симбионты насекомых и других беспозвоночных, живущие в цитозоле каждой клетки животного. Поскольку *Wolbachia* присутствует также и в яйцеклетках, инфекция передается вертикально от матери к потомству.

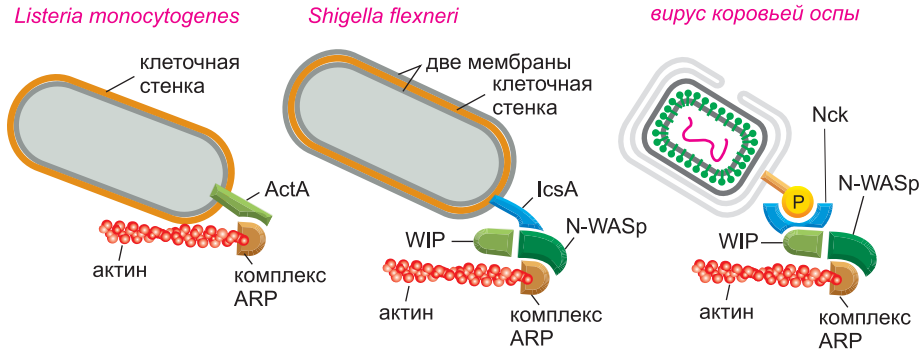
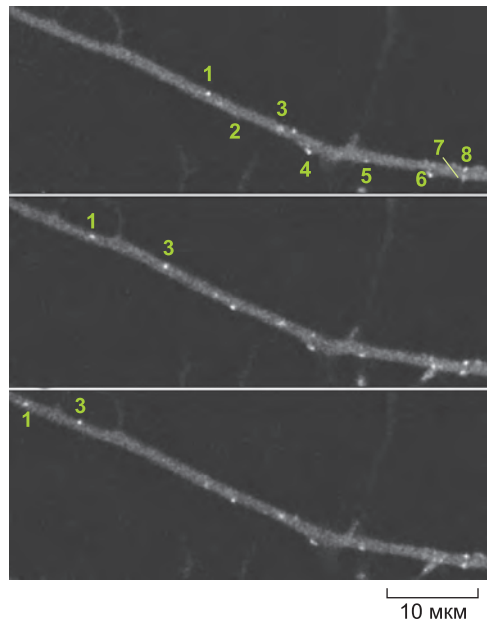


Рис. 24.38. Молекулярные механизмы зарождения (нуклеации) актиновых нитей у разных патогенов. Бактерии *Listeria monocytogenes*, *Shigella flexneri* и вирус коровьей оспы передвигаются внутри клетки хозяина, используя полимеризацию актина. Чтобы индуцировать образование актиновых нитей (нуклеацию), все эти патогены задействуют комплекс ARP и активируют его (см. рис. 16.34), хотя стратегии, используемые для привлечения комплекса ARP, у этих патогенов различны. *L. monocytogenes* экспрессирует поверхностный белок ActA, который непосредственно связывается с комплексом ARP и активирует его. *S. flexneri* экспрессирует поверхностный белок IcsA (не родственник ActA), который привлекает сигнальный белок клетки хозяина N-WASp. Белок N-WASp, в свою очередь, привлекает комплекс ARP, наряду с другими белками хозяина, включая WIP (WASp-interacting protein; белок, взаимодействующий с белком N-WASp). Вирус коровьей оспы экспрессирует белок оболочки, который фосфорилируется по остатку тирозина белком клетки хозяина, тирозинкиназой. Затем фосфорилированный белок привлекает белок Nck, который связывает белок WIP. Белок WIP связывает белок N-WASp, который привлекает и активирует комплекс ARP. Более сложный механизм, используемый вирусом коровьей оспы, как полагают, имеет сильное сходство с тем, как хемотаксические факторы активируют комплекс ARP в подвижных клетках эукариот. Несмотря на различные молекулярные стратегии, применяемые этими тремя патогенами для сборки похожих на хвосты комет актиновых хвостов, последние имеют во многом подобное строение, а сами патогены передвигаются внутри зараженных клеток с сопоставимыми скоростями.

Рис. 24.39. Флуоресцентные микрофотоснимки вируса герпеса, перемещающегося по аксону. Эта нервная клетка заражена альфа-герпес вирусом, который генетически сконструирован таким образом, что экспрессирует зеленый флуоресцентный белок (GFP, green fluorescent protein) ковалентно связанный с одним из белков капсида. В этом сегменте аксона видно несколько вирусных частиц, и две из них (под номерами 1 и 3) перемещаются в направлении от тела клетки, расположенного справа за пределами снимка. (Снимки заимствованы из G. A. Smith, S. P. Gross and L. W. Enquist, *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 98: 3466–3470, 2001. С любезного разрешения National Academy of Sciences.)



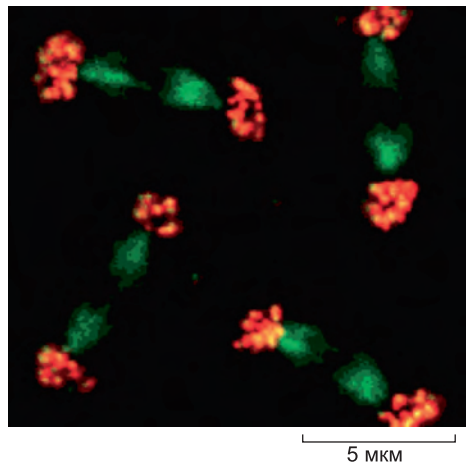


Рис. 24.40. Сцепление *Wolbachia* с микротрубочками. На этом флуоресцентном микрофотоснимке представлены *Wolbachia* (красные), сцепленные с микротрубочками (зеленые) четырех митотических веретен деления в синцитиальном эмбрионе дрозофилы. При расхождении хромосом бактериальные скопления на полюсах веретена деления будут расходиться вместе с ними (сами хромосомы на экваторе веретен деления не видны). (Фотография заимствована из Н. Kose and T. L. Karr, *Mech. Cell Dev.* 51: 275–288, 1995. С любезного разрешения Elsevier.)

Бактерии обеспечивают свое попадание во все клетки хозяина, связываясь с микротрубочками, с тем чтобы при каждом делении зараженной клетки митотическое веретено деления разводило бы их к противополож-

ным полюсам клетки одновременно с расхождением хромосом (рис. 24.40). Как будет рассказано позже, *Wolbachia* может разительно менять репродуктивное поведение своего хозяина-насекомого.

24.2.10. Вирусы принимают на себя управление метаболизмом клетки-хозяина

В большинстве своем внутриклеточные бактерии и паразиты содержат всю необходимую для их собственного метаболизма и размножения основную генетическую информацию и полагаются на клетку-хозяина только в плане питательных веществ. Вирусы, напротив, используют основные аппараты хозяйской клетки для осуществления практически всех процессов в ходе своего воспроизведения: все вирусы синтезируют свои белки при помощи рибосом клетки хозяина, а иные еще и используют ДНК- и РНК-полимеразы хозяина для соответственно репликации и транскрипции.

Многие вирусы кодируют белки, видоизменяющие транскрипционный или трансляционный аппарат хозяина таким образом, чтобы он способствовал синтезу вирусных белков в ущерб синтезу белков клетки. В результате синтетические возможности клетки-хозяина преимущественно направляются на производство новых вирусных частиц. Так, полиовирус кодирует протеазу, которая специфично расщепляет компонент ТАТА-связывающий фактора в составе TFIID (см. рис. 6.18), тем самым эффективно отключая всю опосредованную РНК-полимеразой II транскрипцию клетки хозяина. Вирус гриппа производит белок, который блокирует и сплайсинг, и полиаденилирование РНК-транскриптов, делая тем самым невозможным экспорт РНК-транскриптов из ядра (см. рис. 6.40).

Инициация трансляции большинства молекул мРНК клетки хозяина зависит от опознавания их 5'-кэпа группой факторов инициации трансляции (см. рис. 6.72). Нередко в ходе заражения вирусом тормозится процесс инициации трансляции молекул мРНК хозяина, с тем чтобы рибосомы клетки хозяина могли быть более эффективно использованы для синтеза вирусных белков. В геномах некоторых вирусов — к примеру, в геноме вируса гриппа, — закодированы эндонуклеазы, которые отщепляют 5'-кэп у молекул мРНК клетки хозяина. Некоторые вирусы

продвинулись в этом деле еще дальше — они используют отщепленные 5'-кэпы в качестве праймеров для синтеза вирусных мРНК; этот процесс получил название «кражи» кэпов. У других РНК-вирусов в геноме закодированы протеазы, которые расщепляют некоторые факторы инициации трансляции. Эти вирусы полагаются на 5'-кэп-независимую трансляцию вирусной РНК, в которой задействованы участки внутренней посадки рибосом (IRES) (см. рис. 7.108).

Небольшая группа ДНК-вирусов для репликации своего генома использует ДНК-полимеразу клетки хозяина. К несчастью для вирионов, ДНК-полимераза экспрессируется на высоком уровне только на протяжении S-фазы клеточного цикла, а большинство клеток, заражаемых этими вирусными частицами, проводит большую часть времени в G₁-фазе. Аденовирус выработал механизм, по которому он индуцирует «вхождение» клетки-хозяина в S-фазу и, следовательно, имеет активную ДНК-полимеразу (которая, в свою очередь, реплицирует вирусный геном) в больших количествах. В геноме аденовируса закодированы белки, которые инактивируют как Rb, так и p53 — два ключевых супрессора прогрессии клеточного цикла (обсуждалось в главе 17). Как можно было бы ожидать от всякого механизма, вызывающего неконтролируемую репликацию ДНК, эти вирусы при определенном стечении обстоятельств могут способствовать развитию рака.

24.2.11. Патогены могут изменять поведение хозяина, с тем чтобы облегчить свое распространение

Как мы могли убедиться, довольно часто патогены изменяют поведение клетки хозяина таким образом, чтобы оно способствовало выживанию и размножению патогена. Подобным же образом патогены нередко изменяют поведение всего организма хозяина, с тем чтобы облегчить свое распространение, что мы уже видели на примерах *Trypanosoma brucei* и *Yersinia pestis*. В некоторых случаях трудно сказать, кому та или иная реакция хозяина приносит больше выгоды — самому хозяину или вызвавшему эту реакцию патогену. Например, инфекция патогенами, такими как вызывающая диарею *Salmonella enterica*, обычно носит самоограничивающийся характер, потому что в результате диареи патогены эффективно выводятся из организма. С другой стороны, испражнения, содержащие бактерии, способствуют распространению инфекции. Точно так же кашель и чихание, с одной стороны, помогают организму очистить дыхательные пути от патогенов, с другой стороны, с их помощью инфекция распространяется на новых индивидов. Так, простуженный человек, чихнув, выделяет в окружающую среду около 20 000 капелек, с содержащимися в них риновирусами или коронавирусами.

Пугающий пример того, как патоген изменяет поведение хозяина, дают нам наблюдения за зараженными вирусом бешенства, что впервые описано в египетских письменах более 3000 лет назад. Вирус бешенства размножается в нейронах и «заставляет» зараженных людей или животных становиться «бешеными» в прямом смысле слова: они становятся необычайно агрессивными и у них развивается сильное желание кусать. Вирус выделяется со слюной и проникает через рану от укуса в кровотоки жертвы, тем самым распространяя инфекцию на новых хозяев.

И все же *Wolbachia* — наиболее впечатляющий пример патогена, изменяющего поведение хозяина. Эти бактерии управляют половым поведением своего хозяина с целью максимизировать свое распространение. Как описано ранее, *Wolbachia* передается по вертикали — от самки через ее яйцеклетки потомству. Однако если этот патоген попадает в мужскую особь, то оказывается в тупике, поскольку не может

проникнуть в сперматозоиды. У некоторых видов плодовых мушек *Wolbachia* так изменяет сперматозоиды своего хозяина, что они могут оплодотворить яйца только зараженных самок. Такая модификация дает зараженным самкам репродуктивное преимущество по отношению к незараженным самкам, что приводит к тому, что общая доля носителей *Wolbachia* постепенно возрастает. При заражении хозяев, относящихся к другим видам, *Wolbachia* убивает самцов, но щадит самок, в результате чего число самок в популяции увеличивается, а значит, увеличивается число особей, способных производить яйца для распространения инфекции. У некоторых ос заражение *Wolbachia* способствует производству самками яиц, которые развиваются партеногенетически, без потребности в оплодотворении сперматозоидами; самцы этих видов полностью исчезли. Для некоторых из своих хозяев *Wolbachia* стала обязательным симбионтом, и лечение инфекции приводит к смерти хозяина. В одном из случаев люди научились использовать такую зависимость: нематоду филярию, вызывающую африканский онхоцеркоз (речную слепоту), трудно убить противопаразитарными средствами, но при лечении людей, страдающих онхоцеркозом, антибиотиками, губительно действующими на заражающую нематоду *Wolbachia*, заражение человека нематодой также останавливается.

24.2.12. Патогены быстро эволюционируют

Сложность и специфичность молекулярных взаимодействий между патогенами и клетками их хозяев может навести на мысль о том, что шанс приобрести вирулентность за счет случайной мутации практически равен нулю. Между тем постоянно появляются новые патогены, а старые постоянно изменяются так, что давно известные возбудители неожиданно оказываются устойчивыми к хорошо зарекомендовавшим себя методам лечения. Патогены имеют два больших преимущества, которые позволяют им быстро эволюционировать. Во-первых, они очень быстро размножаются, предоставляя субстрат для искусственного и естественного отбора. Тогда как человеку и шимпанзе понадобилось 8 миллионов лет дивергентной эволюции для приобретения 2%-го различия в последовательностях их геномов, изменение генома полиовируса на 2% происходит за пять дней, то есть за время пути вируса из ротовой полости человека в его кишечник. Во-вторых, давление естественного отбора благоприятствует такой быстрой генетической изменчивости. Действующими силами этого отбора выступают современные противопатогенные лекарства и система приобретенного иммунитета хозяина, уничтожающие все патогены, не сумевшие вовремя измениться.

Во многих случаях изменения в поведении человека способствуют возникновению и эволюции новых инфекционных заболеваний. К примеру, высокая плотность населения и антисанитария в средневековых городах способствовали тому, что бактерия *Yersinia pestis* распространилась и на человека, хотя до этого ее естественными хозяевами были грызуны, это и стало причиной возникновения чумы. Устремление современных людей в крупные мегаполисы с высокой плотностью населения также создает для возбудителей инфекций благоприятные условия, способствующие возникновению эпидемий таких болезней, как грипп, туберкулез и СПИД, которые не могли бы распространяться столь быстро и на столь дальние расстояния в более рассредоточенных популяциях человека. Путешествие самолетом теоретически может позволить бессимптомным, недавно зараженным носителям инфекции распространить эпидемию на любой уголок земного шара в течение нескольких часов или дней.

24.2.13. Изменчивость антигенов у патогенов опосредована многими механизмами

Примером непрекращающейся борьбы возбудителя инфекции с иммунной системой на молекулярном уровне является феномен **изменчивости антигенов**. Важная реакция системы приобретенного иммунитета на многие патогены — выработка хозяином антител, которые опознают специфические молекулы (*антигены*) на поверхности патогена (обсуждается в главе 25). Многие патогены изменяют эти антигены в процессе заражения, что позволяет им избежать уничтожения антителами. Например, некоторые паразитические эукариоты осуществляют запрограммированные перестановки генов, кодирующих их поверхностные антигены. Наиболее яркий пример — африканская трипаносома *Trypanosoma brucei* — представитель паразитических простейших, который распространяется через переносчиков-насекомых и вызывает сонную болезнь. (*T. brucei* — близкий родственник *T. cruzi* — см. рис. 24.28, хотя размножается вне клетки, а не внутри нее.) *T. brucei* покрыта гликопротеином единственного типа — *вариантоспецифичным гликопротеином* (*VSG, variant-specific glycoprotein*), который вызывает у хозяина защитную продукцию антител, что позволяет быстро избавиться от большинства паразитов. Однако геном трипаносомы содержит приблизительно 1000 генов *Vsg*, кодирующих антигены VSG с уникальными антигенными свойствами. В каждый момент времени экспрессируется только один из этих генов, будучи скопирован в активно транскрибируемый участок генома. За счет перестановки генов в активно транскрибируемый участок генома периодически копируются новые аллели, в силу чего меняется тип экспрессируемого гена *Vsg*. Благодаря этому нескольким трипаносомам с изменившимся антигеном VSG всегда удается избежать опосредованного антителами уничтожения, размножиться и вызвать новый приступ болезни, что приводит к хронической рецидивирующей инфекции (рис. 24.41). Многие другие паразитические эукариоты, включая представителя простейших *Plasmodium falciparum*, возбуждающего малярию, и гриб *Pneumocystis carinii*, который вызывает воспаление легких у людей, больных СПИДом, используют весьма схожие стратегии уклонения от реакций приобретенного иммунитета хозяина.

Патогены бактериальной природы тоже могут быстро изменять свои поверхностные антигены. Виды из рода *Neisseria* — чемпионы в этой области. Эти грамположительные кокки возбуждают менингит и заболевания, передающиеся половым путем. Чтобы обеспечить изменчивость антигенов, они используют удивительное разнообразие механизмов. Во-первых, они осуществляют генетическую рекомбинацию (весьма подобную той, что была чуть выше описана для патогенных эукариот), которая позволяет им изменять (с течением времени) белок пилин, из которого они выстраивают свои поверхностные пили: за счет рекомбинации между многочисленными «молчащими» копиями гена *pilin* и единственным экспрессируемым локусом они могут экспрессировать десятки немного отличающихся вариантов этого белка. Во-вторых, уровни экспрессии многих белков клеточной поверхности, равно как и многих ферментов биосинтеза, участвующих в синтезе углеводов клеточной поверхности, непрерывно изменяются за счет случайного «проскальзывания» и репарации tandemных повторов нуклеотидов в промоторной области или кодирующей последовательности соответствующих генов (таким образом модулируется транскрипция или трансляция). Так, *Neisseria* имеет около 10 разных генов, кодирующих варианты белков наружной мембраны из семейства Ора, каждый из которых подвергается

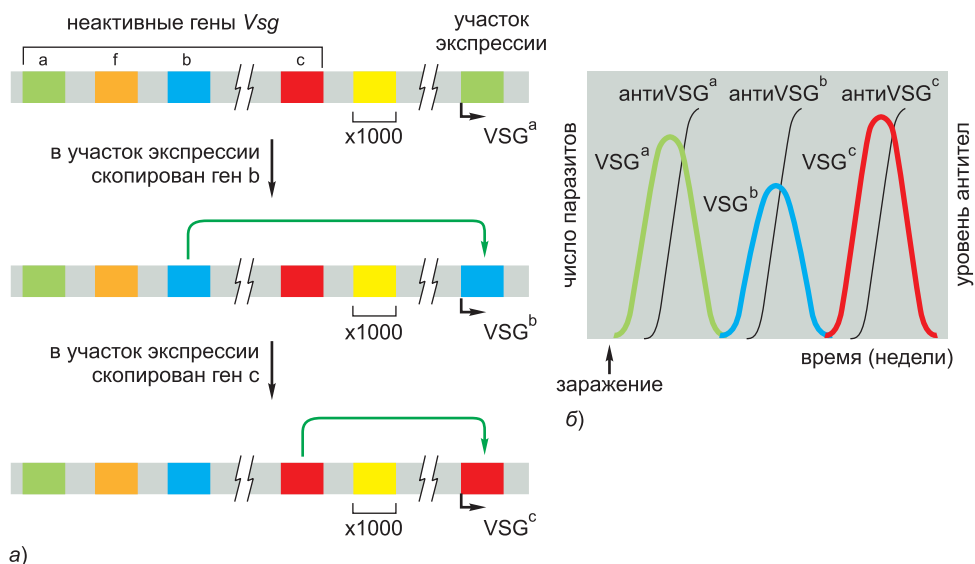


Рис. 24.41. Изменчивость антигенов у трипаносом. а) Вообще у *Trypanosoma brucei* имеется около 1000 разных генов *Vsg*, но есть только один участок для их экспрессии. За счет механизма конверсии бездействующий ген *Vsg* копируется в участок экспрессии, где и транскрибируется. Каждый ген *Vsg* кодирует свой поверхностный белок (антиген). За счет редких событий «переключения» трипаносома может неоднократно изменять тип экспрессируемых ею поверхностных антигенов. б) Человек, зараженный трипаносомой, экспрессирующей антиген VSG^a , развивает защитную реакцию антителогенеза, которая позволяет уничтожить большинство паразитов, экспрессирующих этот антиген. Однако несколько трипаносом могут переключиться на экспрессию антигена VSG^b и благополучно размножиться, пока не будут уничтожены при помощи антител анти VSG^b . Однако к тому времени некоторые паразиты успеют переключиться на экспрессию антигена VSG^c , и такой цикл, видимо, повторяется до бесконечности.

случайному изменению уровня экспрессии белка вышеописанным способом, что в итоге дает целый спектр различных вариантов белкового состава поверхности клетки и может привести систему приобретенного иммунитета хозяина в полное замешательство. Анализ последовательности генома нескольких видов *Neisseria* показал, что с помощью различных вариаций этого механизма они способны изменять уровни экспрессии более 100 генов. В-третьих, *Neisseria* чрезвычайно хорошо умеет захватывать ДНК из окружающей среды и встраивать ее в свой геном, что в еще большей степени способствует ее экстраординарной изменчивости. К тому же у *Neisseria* отсутствуют некоторые механизмы репарации ДНК, имеющиеся у других бактерий, таких как, скажем, *E. coli*, так что вероятность приобретения ею новых мутаций по причине ошибок репликации выше среднего. При виде всех этих механизмов, работающих совместно, становится ясно, почему нам до сих пор не удалось создать эффективную вакцину против *Neisseria*.

Многие другие болезнетворные бактерии тоже используют один или несколько подобных механизмов для повышения изменчивости своих антигенов, хотя, конечно, *Neisseria* — ярчайший пример. Более того, в ходе ряда исследований показано, что болезнетворные бактерии, полученные от пациентов с симптомами болезни, с намного более высокой вероятностью будут иметь дефекты в механизмах репарации ДНК, чем штаммы бактерий того же вида, обитающих в окружающей среде. Это

любопытное открытие наводит на мысль о том, что иммунная система человека может ускорять эволюцию бактерий.

Нередко быстрая эволюция бактерий бывает обусловлена не точечными мутациями, а *горизонтальным переносом генов*. Большинство случаев горизонтального переноса генов опосредовано поглощением плазмид и бактериофагов. Бактерии с легкостью получают островки патогенности и плазмиды вирулентности (см. рис. 24.5) у других бактерий. Как только бактерия приобретает новый набор генов, связанных с вирулентностью, она может быстро стать причиной новой эпидемии. К примеру, бактерия *Yersinia pestis* изначально была опасна только для крыс и прочих грызунов; в истории человечества она впервые появилась в 542 г. нашей эры, когда город Константинополь опустошила чума. Сравнения последовательности генома *Y. pestis* с последовательностью генома ее близкого родича *Y. pseudotuberculosis*, вызывающего серьезное желудочно-кишечное заболевание, говорят о том, что *Y. pestis*, возможно, появилась как самостоятельный штамм всего лишь несколько тысяч лет назад, незадолго до своего убийственного дебюта в роли возбудителя чумы.

24.2.14. Основная движущая сила эволюции вирусов — ошибки репликации

У вирусов за изменчивость антигенов главным образом отвечают не перестройки генома, а подверженные ошибкам механизмы репликации. Например, геномы ретровирусов за один цикл репликации приобретают в среднем одну точечную мутацию, потому что обратная транскриптаза вирусов, которая производит ДНК из вирусного РНК-генома, не способна исправлять ошибки типа неправильно встроенных нуклеотидов. В организме среднестатистического ВИЧ-инфицированного человека, не проходившего лечение, могут появляться ВИЧ со всеми возможными точечными мутациями в геноме. В некоторой степени высокая частота мутаций выгодна патогену. Как описано ранее (см. рис. 24.23), путем протекающего в организме хозяина микроэволюционного процесса, состоящего из мутации и отбора, большинство вирионов со временем изменяется от формы, наиболее эффективной при заражении макрофагов, к форме, более эффективной для заражения Т-клеток. Аналогичным образом, если пациента лечат антивирусным препаратом, геном вируса может быстро мутировать и в ходе селективного отбора получить преимущество, благодаря устойчивости к этому препарату. Однако если бы коэффициент ошибок обратной транскриптазы был слишком высок, то вредные мутации могли бы накапливаться слишком быстро, и вирус мог бы не выжить. Более того, вариант, который успешно колонизирует одного хозяина, не обязательно переходит к другим, поскольку мутировавший вирион может оказаться неспособным заразить нового хозяина. В отношении ВИЧ-1 мы можем оценить степень этого ограничения, исследуя разнообразие последовательностей геномов вирусов, взятых у зараженных индивидов. Примечательно, что в кодирующей последовательности вирусного генома лишь треть нуклеотидных позиций является инвариантной и в некоторых частях генома, таких, к примеру, как ген *env*, последовательности нуклеотидов могут отличаться даже на 30%. Столь необычайная пластичность генома значительно усложняет попытки создать вакцины против ВИЧ, а также может быть причиной быстрого приобретения лекарственной устойчивости (обсуждается ниже). Она также привела к быстрому появлению новых штаммов ВИЧ. Сравнения последовательностей геномов разных штаммов ВИЧ и весьма им подобных вирусов иммунодефицита

обезьян (SIV, simian immunodeficiency virus), полученных от самых разных видов приматов, показывают, что ВИЧ наиболее вирулентного типа, ВИЧ-1, скорее всего, передался от шимпанзе человеку всего лишь в 1930 г. (рис. 24.42).

Вирусы гриппа — исключение из правила, согласно которому в эволюции вирусов главную роль играет подверженный ошибкам аппарат репликации. Вирусы гриппа необычны тем, что их геном состоит из восьми сегментов РНК — поэтому, когда два штамма заражают одного хозяина, сегменты их геномов могут перегруппироваться (*реассортировать*) и образовать новый штамм вируса гриппа. Вирусы гриппа типа В и С поражают только человека и не вызывают пандемий, а вирусы гриппа А поражают птиц, диких и домашних животных, человека. У человека вирусы гриппа А вызывают сезонные эпидемии, когда болеют миллионы людей, и глобальные пандемии, случающиеся приблизительно раз в 40 лет, — тогда болеют миллиарды, а гибнут миллионы. Известна эпидемия, охватившая Европу в XII веке, пандемии 1729 г., 1830 г. и 1889 г. (последняя подтверждена лабораторными исследованиями сывороток переболевших людей). В 1918 г. высокопатогенный вариант птичьего вируса гриппа пересек межвидовой барьер и заразил человека, вызвав страшную пандемию, названную «испанкой», которая по разным оценкам унесла жизни от 20 до 50 млн. человек¹. Последующие пандемии XX века были обусловлены актами реассортации. В циркулировавшем в человеческой популяции штамме

вируса один или два геномных сегмента — кодируют вирусные белки, определяющие иммунный ответ организма хозяина на вирус гриппа, — заменялись на сегменты от штамма вируса гриппа птиц (рис. 24.43).

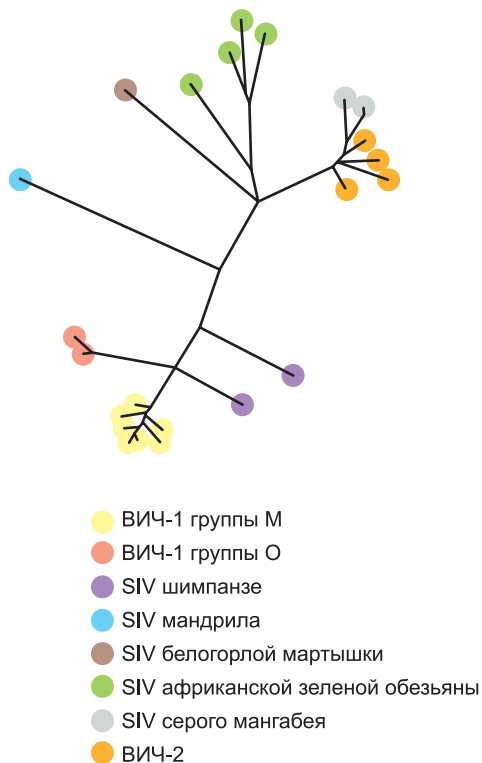


Рис. 24.42. Расхождение ВИЧ-1, ВИЧ-2 и родственных им штаммов SIV. Генетическое расстояние между любыми двумя изолятами вируса определяют путем следования по кратчайшему пути, соединяющему их на дереве. ВИЧ-1 подразделяется на две группы: М (major) и О (outlier). Группа ВИЧ-1 М ответственна за мировую эпидемию СПИДа. ВИЧ-1 М далее подразделяется на разные подтипы (от А до G — не обозначены на рисунке). Подтип В доминирует в Америке и Европе; подтипы В, С и Е господствуют в Азии; а в Африке встречаются все они. Вирусы по крайней мере двух видов обезьян, шимпанзе и мандрила, состоят в более близком родстве с ВИЧ-1, чем ВИЧ-2, а это говорит о том, что ВИЧ-1 и ВИЧ-2 возникли независимо друг от друга. По оценкам ученых, ВИЧ-1 и SIV шимпанзе разошлись примерно в 1930 г. Это дерево было построено по нуклеотидным последовательностям гена *Gag* из базы данных, в которой хранится около 16 000 последовательностей, полученных из образцов вирусов, выделенных по всему миру.

¹ По похожему сценарию могли пойти события 1997 и последующих годов, когда в результате нескольких циклов реассортации появился высокопатогенный штамм вируса гриппа подтипа H5N1, циркулировавший среди птиц и поражавший диких и домашних животных, а также человека. Во многом усилиями научной общественности пандемию удалось предотвратить. — *Прим. ред.*

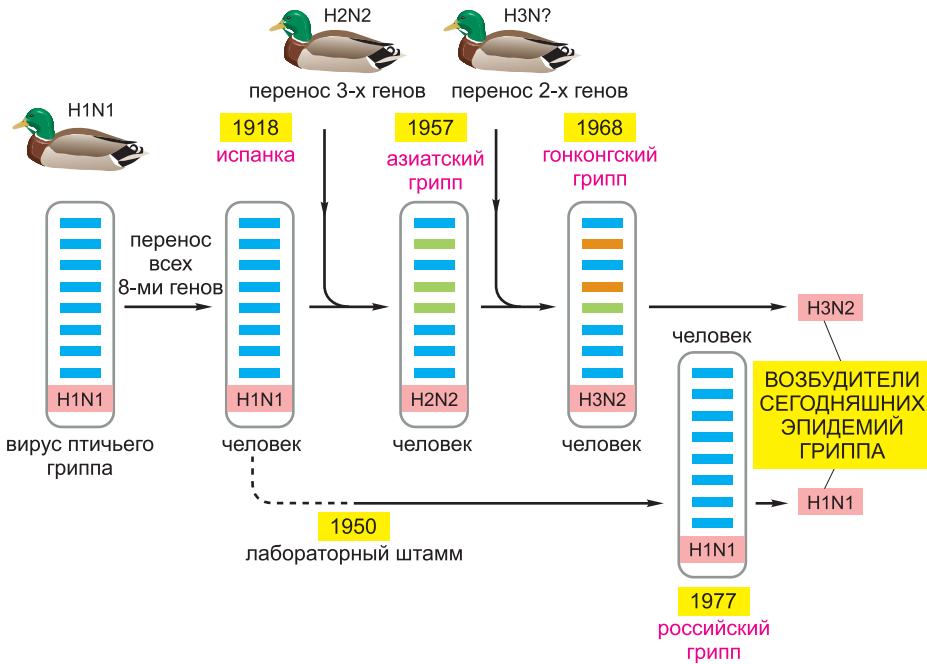


Рис. 24.43. Модель эволюции пандемических штаммов вируса гриппа путем реассортации (рекомбинации). Вирус гриппа А — естественный патоген птиц, особенно водоплавающих, всегда присутствует в популяциях диких птиц. В 1918 г. высокопатогенный штамм вируса гриппа преодолел межвидовой барьер и, передавшись от птиц к человеку, вызвал страшнейшую, охватившую весь мир, пандемию. Этот штамм назван H1N1 по специфическим признакам входящих в него основных антигенов: гемагглютинина (HA, или H) и нейраминидазы (NA, или N). Адаптационные изменения, которые произошли в самом вирусе, приспособившемся к циркуляции в новом хозяине, а также в человеческой популяции, приобрели иммунитет к H1N1 вирусу, положили конец пандемии. Но в последующие годы тот же вирус гриппа H1N1 подтипа, немного изменяясь (такие изменения называются «дрейфом»), продолжал циркулировать среди людей, вызывая заболевания различной степени тяжести. В 1957 г. вспыхнула новая пандемия, когда гены, кодирующие HA и NA, заменили эквивалентные гены птичьего вируса гриппа подтипа H2N2 (зеленые полосы); новый штамм (теперь уже H2N2) не нейтрализовался антителами, выработанными в организмах людей, переболевших вирусом гриппа H1N1. В 1968 г. прошла новая пандемия — тогда ген HA вируса H2N2 (но не ген NA) заменился геном другого птичьего вируса с H3 подтипом HA; новый вирус гриппа, поразивший человечество, относился теперь к подтипу H3N2. В 1977 г. был всплеск заболеваемости вирусом гриппа H1N1, который до этого почти полностью вытеснили штаммы H3N2. На основании анализа генома вируса гриппа H1N1 1977 г. предполагают, что эта малая пандемия была вызвана случайным «выбросом» этого штамма из лаборатории, где его хранили с 1950 г. Как отмечено на схеме, сегодня большинство случаев заболевания гриппом человека связано со штаммами H1N1 и H3N2. Занятие птицеводством подразумевает очень близкий контакт людей с большим числом птиц, которые могут быть носителями различных вариантов вируса гриппа. Иногда такие птичьи вирусы гриппа становятся причиной смерти людей, которые находились в прямом контакте с зараженными птицами (его так и называют птичий грипп), но пока эти вирусы не приобрели способность эффективно передаваться от человека к человеку. Отслеживание таких межвидовых скачков и разработка методик, позволяющих предсказывать вспышки новых эпидемий гриппа, остаются важными задачами современного здравоохранения.

Такие события реассортации позволяют новому вирусу быстро адаптироваться и распространяться по иммунологически неподготовленной популяции человека. Обычно, в течение двух-трех лет население вырабатывает иммунитет к новому штамму и тогда уровень заболеваемости снижается до сезонного. В «спокойные» годы грипп вызывает у здоровых взрослых людей заболевание, протекающее обычно в форме средней тяжести, но несет высокую опасность для групп повышенного риска, к которым относятся дети, беременные женщины, люди с хроническими заболеваниями и пожилые жители нашей планеты. В годы пандемий, особенно в 1918 г., здоровые взрослые оказались необычайно восприимчивыми к заражению. Предполагается, что высокая смертность здорового взрослого населения во время пандемий может быть обусловлена системным поражением тканей ввиду чрезмерно резкой иммунной реакции. Поскольку результаты происходящих в природе событий реассортации между штаммами вирусов гриппа непредсказуемы, совершенно невозможно прогнозировать, когда произойдет следующая пандемия вируса гриппа и какой штамм ее вызовет².

24.2.15. Нарастающая проблема — лекарственная устойчивость патогенов

В то время как деятельность человека, связанная с путешествиями самолетом, поспособствовала распространению одних инфекционных болезней, улучшение санитарных условий жизни населения и развитие медицины предотвратили многие другие или снизили страдания, ими вызываемые. Благодаря эффективным прививкам и всемирным программам вакцинации населения человечеству удалось уничтожить оспу и значительно снизить заболеваемость полиомиелитом, а многие смертельно опасные детские инфекционные болезни, такие как паротит и корь, теперь редкость в богатых, промышленно развитых странах. Тем не менее для многих широко распространенных и губительных инфекционных болезней типа малярии все еще нет эффективных вакцин.

Разработка лекарств, которые лечат, а не предотвращают инфекции, также внесла немалый вклад в улучшение здоровья человека. К самому, пожалуй, успешному классу таких препаратов относятся **антибиотики**, которые убивают бактерии. Одним из первых антибиотиков, применяемых для лечения инфекционных заболеваний человека, был пенициллин; благодаря его своевременному введению в клиническую практику удалось спасти от смерти десятки тысяч раненых во время Второй мировой войны. Поскольку бактерии образуют свое царство, отдельное от царства заражаемых ими эукариот, большинство процессов, связанных с репликацией ДНК, транскрипцией и трансляцией, а также основной метаболизм бактерий отличаются от таковых у их хозяев. Эти различия позволяют находить такие антибактериальные лекарства, которые специфично подавляют эти процессы у бактерий, не нарушая их у хозяина. Почти все антибиотики, используемые для лечения бактериальных инфекций, представляют собой небольшие молекулы, которые тормозят у бактерий синтез макромолекул, поражая бактериальные ферменты, которые или отличаются от имеющихся у эукариот аналогов, или вовлечены в присущие исключительно бактериям метаболические пути, такие как, скажем, биосинтез клеточной стенки (**рис. 24.44** и таблица 6.3).

² Изложенная в этом абзаце информация отличается от текста первоисточника и приведена в соответствии с современными данными по строению вирусов гриппа, возникновению новых штаммов, пандемий и опасности заболевания. — *Отв. ред.*

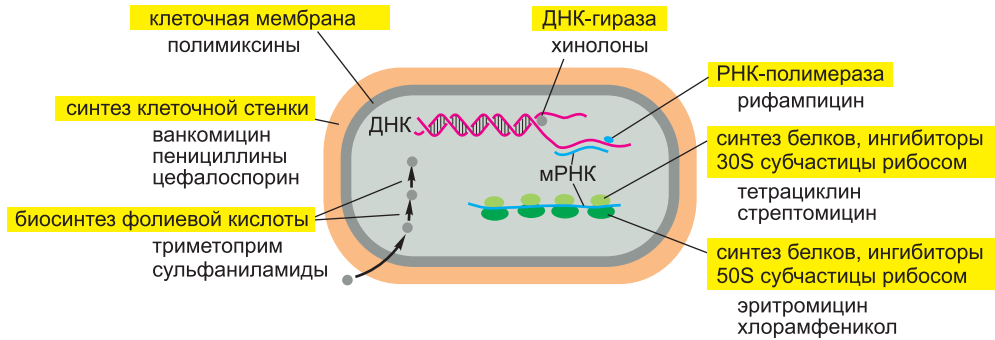


Рис. 24.44. Мишени антибиотиков. Хотя в клинической практике применяют много различных антибиотиков, все они имеют узкий диапазон мишеней, которые выделены желтым фоном. Для каждого класса антибиотиков упомянуто по несколько характерных представителей. Почти все антибиотики, применяемые для лечения инфекций человека, попадают под одну из этих категорий. Подавляющее их большинство блокирует либо синтез бактериальных белков, либо синтез клеточной стенки бактерий.

Однако быстрая эволюция патогенов позволяет бактериям очень скоро развивать устойчивость, или резистентность, к антибиотикам. Типичный интервал между введением антибиотика в клиническую практику и появлением первых устойчивых штаммов составляет всего лишь несколько лет. Подобная устойчивость к лекарствам быстро возникает также и при лечении вирусных инфекций противовирусными препаратами. Например, популяция вируса в ВИЧ-инфицированном человеке, пролечиваемом ингибитором обратной транскриптазы AZT, приобретет полную устойчивость к этому препарату за несколько месяцев. Современная схема лечения инфекций ВИЧ предполагает одновременное использование трех лекарств, что помогает минимизировать возможность приобретения устойчивости.

Для выработки устойчивости к препарату у патогена есть три отработанные стратегии: 1) он может видоизменить молекулярную мишень вводимого препарата так, чтобы она потеряла чувствительность к этому препарату; 2) он может синтезировать фермент, который уничтожает этот препарат; 3) он может предотвратить доступ препарата к мишени, скажем, активно выкачивая его (рис. 24.45).

Как только патоген случайно наткнулся на эффективную стратегию развития устойчивости к препарату, новоприобретенные или мутированные гены, которые и придают ему эту устойчивость, нередко распространяются по всей популяции патогена и могут даже перейти к патогенам иных видов, заболевание, вызываемое которыми, лечат тем же препаратом. Например, высокоэффективный и очень дорогой антибиотик *ванкомицин* использовали как средство последнего поколения для лечения многих серьезных внутрибольничных бактериальных инфекций, уже выработавших устойчивость к большинству других известных антибиотиков. Ванкомицин блокирует один из этапов пути биосинтеза бактериальной клеточной стенки, связываясь с элементами наращиваемой цепи пептидогликана и препятствуя ее поперечной сшивке с другими цепями (см. рис. 24.4). Устойчивость к ванкомицину может возникнуть, если бактерия начнет синтезировать клеточную стенку иного типа, используя иные субъединицы, которые не связываются этим антибиотиком. Самая эффективная форма устойчивости к ванкомицину основана на транспозоне, содержащем семь генов, продукты которых совместно опознают ванкомицин, за-

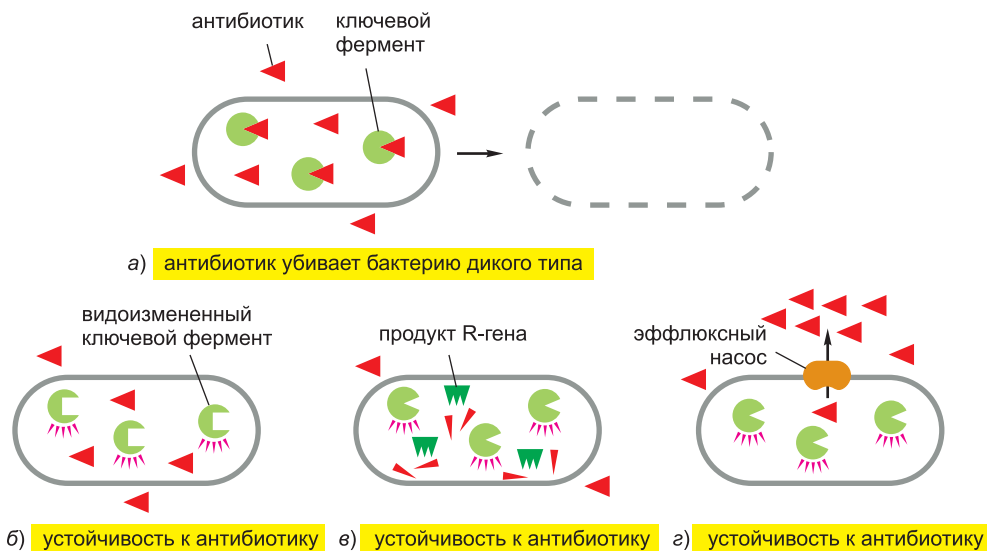


Рис. 24.45. Три главных механизма выработки устойчивости к антибиотику. а) Бактериальные клетки, подвергнутые воздействию препарата (*красные треугольники*), который связывается с критически важным ферментом (*светло-зеленый*) и ингибирует его, погибают, так как фермент не работает. б) Бактерии, которые видоизменили фермент-мишень так, что он больше не связывается с препаратом, выживают и размножаются. Во многих случаях устойчивость приобретает благодаря единственной точечной мутации в гене, кодирующем белок-мишень. в) Бактерии, которые экспрессируют ген устойчивости (R-фактор), кодирующий фермент (*темно-зеленый*), который деградирует или ковалентно модифицирует лекарственный препарат, выживут и будут размножаться. Например, некоторые лекарственно устойчивые бактерии синтезируют фермент β -лактамазу, который расщепляет пенициллин и подобные ему соединения. г) Другие устойчивые бактерии экспрессируют или активируют эффлюксный насос, который выкачивает препарат из цитоплазмы бактерии, используя энергию, полученную или при гидролизе АТФ, или по электрохимическому градиенту плазматической мембраны бактерии. Одни эффлюксные насосы, такие как эффлюксный насос TetR, который придает устойчивость к тетрациклину, специфичны к какому-то одному препарату; другие, называемые эффлюксными насосами множественной резистентности к лекарственным препаратам (MDR), способны экспортировать широкий диапазон разнообразных структурно несхожих лекарств и, таким образом, одновременно могут придать бактерии устойчивость к большому числу различных антибиотиков.

крывают нормальный путь синтеза бактериальной клеточной стенки и запускают производство клеточной стенки иного типа. Хотя, как видно, соединение этих генов в единый транспозон было трудным эволюционным шагом (для выработки устойчивости к ванкомицину потребовалось 15 лет, а не обычные год-два), теперь этот транспозон может быть легко передан многим другим видам болезнетворных бактерий.

Откуда же берутся гены устойчивости к лекарственным препаратам? Иногда, когда бактерии находятся под давлением естественного отбора в результате действия антибактериального препарата, гены устойчивости возникают за счет самопроизвольных мутаций и распространяются в пределах популяции. Однако во многих случаях они появляются в геноме патогена как новые сегменты ДНК, приобретенные путем горизонтального переноса генов, причем нередко они переносятся в транспозонах или репликативных плазидах. В отличие от эукариотических

клеток для бактерий обмен генетическим материалом через межвидовой барьер является обычным делом.

Довольно часто гены устойчивости к препаратам, приобретенные путем горизонтального переноса, по-видимому, поступают из экологических ниш, где они играют важную роль в конкуренции между микроорганизмами. Почти все антибиотики, применяемые сегодня для лечения бактериальных инфекций, представляют собой не синтетические произведения химиков, а напротив, естественные продукты, вырабатываемые грибами или бактериями: пенициллин, например, выделяется плесенью *Penicillium*, а более 50 % антибиотиков, используемых в настоящее время в клинике, вырабатывается грамположительным родом *Streptomyces*. Считают, что эти микроорганизмы производят противомикробные соединения как оружие в конкурентной борьбе с другими микроорганизмами окружающей среды. Многие из этих соединений, вероятно, существовали на Земле как минимум сотни миллионов лет, что было вполне достаточным сроком для того, чтобы сами продуценты антибиотиков, а также их оппоненты, развили в себе механизмы устойчивости. Исследования независимых выборок бактерий, взятых из образцов почвы, которые никогда преднамеренно не подвергались действию антибиотиков, показывают, что бактерии, как правило, уже являются устойчивыми примерно к семи или восьми антибиотикам, широко используемым в клинической практике. Всякий раз, когда болезнетворные микроорганизмы начинают ощущать давление естественного отбора, обусловленное лечением пациента антибиотиками, они вполне могут обратиться к этому общемировому и, по сути, неистощимому источнику генетического материала и приобрести устойчивость.

Как и во многих других вопросах, связанных с появлением и распространением инфекционных болезней, образ жизни и поведение человека усугубили проблему развития устойчивости к лекарственным препаратам. Многие пациенты самовольно принимают антибиотики для лечения таких вирус-индуцированных заболеваний и состояний, как грипп, простуда, воспалительные процессы в носоглотке и ушах, хотя в этих случаях их принимать бессмысленно. Такого рода постоянное и неоднократное неправомерное употребление антибиотиков в конечном счете может привести к появлению устойчивой к антибиотикам нормальной микрофлоры, которая, в свою очередь, может передать приобретенную устойчивость патогенам. Например, именно этот путь привел к нескольким вспышкам инфекционной диареи, вызванной устойчивой к антибиотикам *Shigella flexneri*. Особенно серьезна эта проблема в тех странах, где антибиотики продаются без рецепта врача, как, скажем, в Бразилии, где уже более 80% штаммов *S. flexneri*, идентифицированных у зараженных ею пациентов, устойчиво к четырем и более антибиотикам. Антибиотики неправильно используют также и в сельском хозяйстве, где их часто добавляют в корм животным с целью получить гарантированно здоровое поголовье. Так, в Европе в пищу крупному рогатому скоту повсеместно добавляли некий антибиотик, близкородственный ванкомицину; в итоге развившаяся устойчивость нормальной микрофлоры этих животных, как полагают, стала одним из первичных источников устойчивости к ванкомицину бактерий, которые теперь угрожают всем госпитализированным пациентам.

Поскольку приобретение устойчивости к препаратам почти неизбежно, важно, чтобы продолжать разработки новых, передовых методов лечения инфекционных болезней. Желательно также развивать новые технологии, которые позволят препятствовать или замедлять развитие устойчивости патогенов к лекарственным препаратам.

Заклучение

Все патогены обладают способностью взаимодействовать с клетками хозяина тем или иным образом, чтобы обеспечить как можно более благоприятные условия для своего размножения и распространения, причем такие взаимодействия типа хозяин—патоген весьма разнообразны. Чаще всего патогены колонизируют хозяина, прикрепляясь к поверхностям эпителия (или проникая в него), который выстилает дыхательные пути, желудочно-кишечный тракт и мочевыводящие пути, а также используя иные поверхности, находящиеся в прямом контакте с окружающей средой. Внутриклеточные патогены, к которым относятся все вирусы, а также многие бактерии и простейшие, вторгаются в клетки хозяина и размножаются внутри них. Для этого они используют один из нескольких механизмов проникновения. Вирусы в большей степени полагаются на опосредуемый рецепторами эндоцитоз, тогда как бактерии прибегают к клеточной адгезии и фагоцитозу; в обоих случаях необходимые оснащение и энергию предоставляет клетка хозяина. В отличие от всех остальных патогенов, простейшие используют уникальные стратегии вторжения, которые обычно требуют значительных затрат энергии со стороны самого захватчика. Попав внутрь, внутриклеточные патогены находят полость, благоприятную для их размножения, при этом нередко изменяют мембранный транспорт клетки-хозяина и используют цитоскелет клетки-хозяина для внутриклеточного передвижения. Вдобавок к изменению поведения отдельных клеток, патогены зачастую изменяют поведение всего организма хозяина таким образом, чтобы это способствовало их распространению в новых хозяев. Патогены эволюционируют с огромной скоростью, так что очень часто появляются новые инфекционные болезни, а «старые» патогены постоянно приобретают новые способы уклонения от наших попыток лечения, предупреждения и искоренения их с лица Земли.

24.3. Барьеры против инфекции и система врожденного иммунитета

Ежедневно человек подвергается нападкам со стороны миллионов патогенов — через прямой контакт, прием пищи и вдыхаемый воздух. Наша способность избегать заражения в значительной степени зависит от системы приобретенного иммунитета (см. главу 25), которая помнит предыдущие встречи с определенными патогенами и специфически уничтожает или устраняет их при повторном попадании этих патогенов в организм. Однако при первом знакомстве с новым патогеном реакции приобретенного иммунитета развиваются медленно, так как специфические клоны В- и Т-клеток, которые призваны на него реагировать, должны активироваться и размножиться; поэтому для развития эффективной реакции может потребоваться неделя или около того. В противовес такой медлительности, одна-единственная бактерия с частотой удвоения в 1 час может произвести до 20 миллионов потомков за один день, а это уже резко выраженная инфекция. Поэтому в течение первых критических часов и дней нападения нового патогена мы полагаемся на **систему врожденного иммунитета**, которая должна защитить нас от любой инфекции. Как будет описано в главе 25, наряду с собственно защитной функцией, система врожденного иммунитета помогает нам запускать реакции приобретенного иммунитета.

Реакции врожденного иммунитета не являются специфичными к какому-то конкретному патогену, как это имеет место в случае реакций приобретенного иммунитета. Вообще, система врожденного иммунитета включает три линии защиты, которые могут предотвратить заражение или остановить его прежде, чем потребуется пустить в ход систему приобретенного иммунитета. В первую из таких оборонительных линий входят физические и химические барьеры, которые предотвращают свободный доступ микроорганизмов внутрь организма человека. Они представлены толстым слоем мертвых ороговевших клеток, образующих поверхность нашей кожи, плотными соединениями между эпителиальными клетками, кислой средой желудка и, наконец, компонентами слоя слизи, которые препятствуют колонизации или даже убивают болезнетворные бактерии. Нормальная флора также играет важную роль в защите организма от захватчиков, конкурируя за ту же экологическую нишу и тем самым ограничивая колонизацию.

Второй оборонительный рубеж врожденной защитной системы включает собственно клеточные реакции, посредством которых отдельно взятая клетка узнает, что она заражена, и принимает меры, чтобы убить или обезвредить захватчика. Например, в большинстве своем клетки, поглотившие ту или иную бактерию путем индуцированного патогеном фагоцитоза (см. рис. 24.26), незамедлительно направляют фагосому на слияние с лизосомой, подвергаящей вторгшийся микроорганизм действию пищеварительных ферментов. Другой древнейший механизм самозащиты — способность клеток хозяина осуществлять деградацию двухцепочечной РНК, которая обычно является промежуточным звеном в цикле репликации вируса; зараженные клетки способны разрушать даже одноцепочечную РНК, обладающую участком с последовательностью, идентичной последовательности двухцепочечной затравки. Этот механизм не только служит эффективным оружием самозащиты клетки от многих вирусных инфекций, он также позволяет молекулярным биологам управлять экспрессией генов, используя технологию РНК-интерференции (РНКи).

Третья линия врожденной иммунной защиты сформирована из специализированных белков и фагоцитирующих клеток, которые опознают консервативные особенности патогенов и быстро активизируются на уничтожение захватчиков. В их ряды входят профессиональные фагоцитирующие клетки, как то: нейтрофилы и макрофаги, натуральные киллеры (НК-клетки) и система комплемента. Тогда как система приобретенного иммунитета возникла в ходе эволюции менее 500 миллионов лет назад и характерна только для позвоночных животных, реакции врожденного иммунитета выполняют свою защитную функцию и у позвоночных, и у беспозвоночных, и даже у растений, причем основные механизмы их регуляции у всех этих организмов подобны. Как мы увидим в главе 25, у позвоночных реакции врожденного иммунитета необходимы также и для активации реакций приобретенного иммунитета за счет продукции внеклеточных сигнальных молекул, помогающих побудить систему приобретенного иммунитета к действию.

24.3.1. Эпителиальные поверхности и дефенсины помогают предотвратить заражение

У позвоночных животных кожа и другие эпителиальные поверхности, включая и те, что выстилают кишечник, а также дыхательные и мочевыводящие пути (рис. 24.46), служат физическим барьером между внутренней средой организма и внешним миром. Слой слизи обеспечивает дополнительную защиту от микробных, механических и химических повреждений внутренних эпителиальных поверхностей;

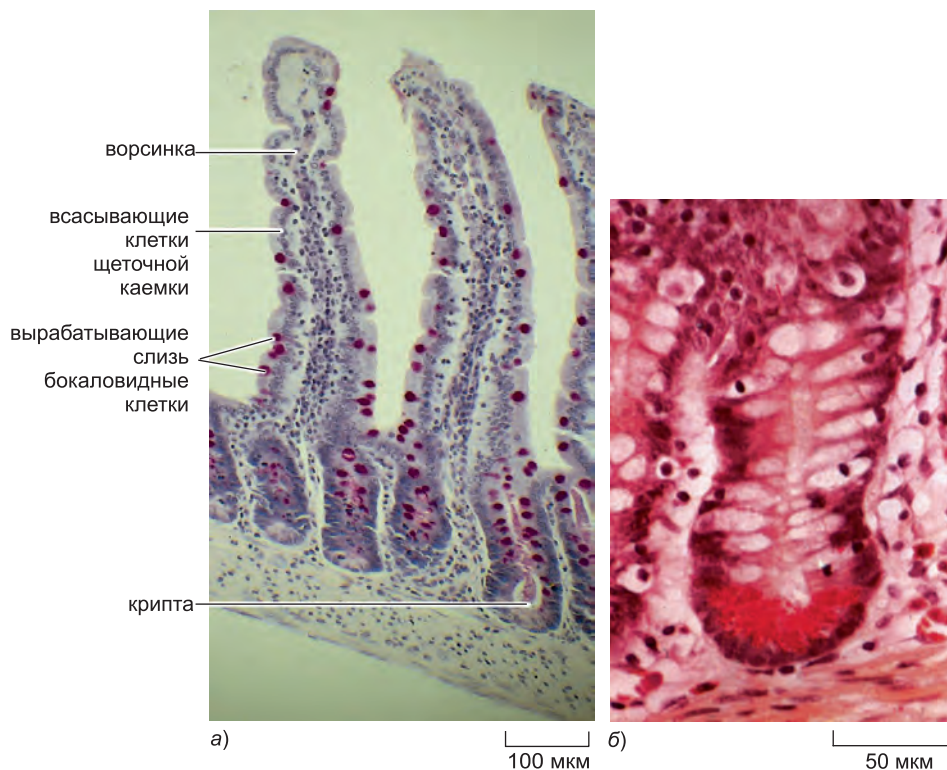


Рис. 24.46. Эпителиальная линия защиты от вторжения микробов. *а)* На микрофотографии поперечного среза стенки тонкой кишки человека видны три ворсинки. Выделяющие слизь бокаловидные клетки окрашены *сиреневым* цветом. Защитный слой слизи покрывает открытые поверхности ворсинок. В их основании лежат *крипты*, где делятся эпителиальные клетки. *б)* На снимке крупным планом показана окрашенная крипта и здесь можно различить гранулы в клетках Панета (*алые*). Эти клетки секретируют в просвет кишечника большие количества дефенсина и прочих антибактериальных пептидов. (Снимок *б* любезно предоставлен H. G. Burkitt и заимствован из P. R. Wheater, *Functional Histology*, 2nd ed. London: Churchill–Livingstone, 1987.)

кожа многих земноводных и рыб также покрыты защитным слоем слизи. Вязкое слизистое покрытие образуется преимущественно из секретируемого муцина и других гликопротеинов и служит физическим препятствием для патогенов, желающих прикрепиться к эпителию. Наряду с этим, оно облегчает очистку эпителия от патогенов, осуществляемую ритмически сокращающимися ресничками эпителиальных клеток (мы обсуждали это в главе 23).

Для усиления защитной функции слой слизи содержит особые вещества, которые или убивают патогены, или подавляют их размножение. Наиболее распространенные из них — антибактериальные пептиды, названные **дефенсинами**, которые встречаются у всех животных и растений. Обычно это короткие (12–50 аминокислот) положительно заряженные молекулы с гидрофобными или амфипатическими доменами. Они образуют многоликое семейство с широким спектром антибактериальных свойств, включая способность убивать или инактивировать грамотрицательные грамположительные бактерии, грибы (в том числе дрожжи), паразитов (в том числе

простейших и нематод) и даже вирусы с оболочкой типа ВИЧ. Дефенсины, к тому же, — одни из самых распространенных белков в нейтрофилах (см. ниже), которые используют их в ходе умерщвления фагоцитированных патогенов.

Механизм умерщвления патогенов дефенсинами до сих пор неясен. Одна из возможностей такова: они внедряют свои гидрофобные или амфипатические домены в поверхностную мембрану своих жертв, тем самым нарушая ее целостность. Отчасти их избирательность, направленная на патогены, а не на клетки хозяина, может быть следствием их предпочтения к мембранам, не содержащим холестерин. После разрушения мембраны патогена эти положительно заряженные пептиды могут взаимодействовать с различными отрицательно заряженными мишенями внутри микроба, в том числе с его ДНК. Ввиду относительно неспецифичной природы взаимодействия между антибактериальными пептидами и микробами, которых они убивают, патогенам трудно приобрести к ним устойчивость. Таким образом, дефенсины и прочие антибактериальные пептиды, в принципе, могли бы стать полезными терапевтическими средствами для борьбы с инфекцией — или самостоятельно, или в сочетании с традиционными лекарственными препаратами.

24.3.2. Клетки человека распознают консервативные признаки патогенов

Несмотря на очевидную мощь этих передовых рубежей обороны, микроорганизмы иногда проходят сквозь эпителиальные барьеры. В таких случаях системы врожденного и приобретенного иммунитета должны опознать их и уничтожить, не нанося вреда хозяину. Следовательно, иммунная система должна уметь отличать «своих» от «чужих». Как с этой задачей справляется система приобретенного иммунитета, мы опишем в главе 25. Система врожденного иммунитета полагается на опознавание молекул особого типа, присущих многим патогенам, но не свойственных хозяину. Такие патоген-ассоциированные молекулы (названные *патоген-ассоциированными*, или *микробоспецифичными*, *иммуностимуляторами*) запускают реакции врожденного иммунитета двух типов: 1) *воспалительные реакции* (обсудим их ниже) и 2) фагоцитоз профессиональными фагоцитами (нейтрофилами и макрофагами) и *дендритными клетками*, которые активируют Т-клетки системы приобретенного иммунитета (обсудим их в главе 25). И воспалительные, и фагоцитарные реакции могут происходить быстро, даже если хозяин ранее никогда не сталкивался с атакующим в данный момент патогеном.

Микробоспецифичные иммуностимуляторы бывают разного типа. Большинство из них характерно не исключительно для патогенов, а свойственно многим бактериям, как опасным, так и неопасным. Отличие инициации трансляции у бактерий связано с тем, что в качестве первой аминокислоты у них обычно используется *формилированный метионин*, а не обыкновенный метионин, как у эукариот. Поэтому любой пептид, несущий на своем N-конце формилметионин, должен быть бактериального происхождения. Содержащие формилметионин пептиды служат мощными хемоаттрактантами для нейтрофилов, которые быстро мигрируют к источнику таких пептидов и поглощают синтезирующие их бактерии (см. рис. 16.101).

Кроме того, наружную поверхность многих микроорганизмов составляют молекулы, которые не встречаются у многоклеточных хозяев, и эти молекулы также выступают в роли иммуностимуляторов. К ним относится покрытая пептидогликанами клеточная стенка и жгутики бактерий, а также липополисахарид (ЛПС) на поверхности грамотрицательных бактерий (рис. 24.47) и тейхоевые кислоты в оболочке

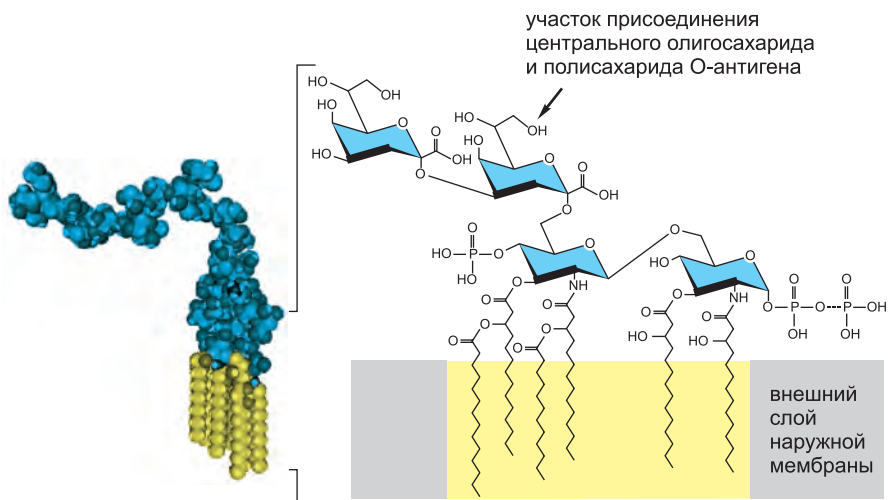


Рис. 24.47. Структура липополисахарида (ЛПС). Слева представлена трехмерная структура молекулы ЛПС, где хвосты жирных кислот показаны желтым цветом, а сахара — синим. Справа показана молекулярная структура нижней части ЛПС. Мембранный якорь состоит из двух связанных между собой глюкозамин-новых остатков, к которым присоединены три фосфата и шесть хвостов жирных кислот. К этой основной структуре присоединена длинная, обычно сильно разветвленная, углеводная цепь. На этом рисунке изображен ЛПС простейшего типа, необходимый для жизни *E. coli*; в его цепи всего две углеводных остатка, причем одинаковых (3-дезоксид-D-манно-октулозоновая кислота). В положении, отмеченном стрелкой, у грамотрицательных бактерий дикого типа присоединен центральный олигосахарид, состоящий из 8–12 соединенных друг с другом сахаров, и длинный полисахарид O-антигена, состоящий из повторяющейся до сорока раз олигосахаридной единицы. Сахара, составляющие центральный олигосахарид и полисахарид O-антигена, отличаются у бактерий разных видов и даже у представителей разных штаммов одного и того же вида. Все формы ЛПС стимулируют сильные реакции врожденного иммунитета.

грамположительных бактерий (см. рис. 24.4, б). В их число входят и такие компоненты клеточной стенки грибов, как маннан, глюкан и хитин. Многие паразитические эукариоты также содержат уникальные компоненты мембран, служащие иммуностимуляторами, как, скажем, гликозилфосфатидилинозитол у *Plasmodium*. Дабы избежать развития неуместных иммунных реакций, хозяин должен быть способен отличать микробспецифичные иммуностимуляторы, вырабатываемые патогенами, от весьма подобных или даже идентичных молекул, выделяемых нормальной микрофлорой. Во многих случаях достаточно важным фактором может стать разница в концентрации иммуностимуляторов; обыкновенно низкие концентрации той или иной молекулы могут отслеживаться иммунной системой, но не вызывать реакцию, тогда как внезапные скачки концентрации или появление иммуностимуляторов в обычно стерильных областях организма будут вызывать реакцию врожденного иммунитета.

Имуностимуляторами могут послужить также и короткие последовательности бактериальной или вирусной ДНК. Всею виной — «мотив CpG», который состоит из неметилированного динуклеотида CpG, фланкированного двумя 5'-пуриновыми и 3'-пиримидиновыми остатками. В ДНК позвоночных эта короткая последовательность встречается по крайней мере в 20 раз реже, чем в бактериальной или вирусной ДНК, и может активировать реакции врожденного иммунитета.

Довольно часто микробоспецифичные иммуностимуляторы различных классов встречаются в виде повторяющихся структур и поэтому их часто называют *патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (РАМР)*. Такие паттерны опознаются нацеленными на них рецепторами хозяина нескольких типов, совокупно называемыми **паттерн-распознающими рецепторами**. Эти рецепторы могут быть представлены растворимыми рецепторами в крови (компонентами *системы комплемента*, которую мы разберем чуть ниже) и мембраносвязанными рецепторами на клетках хозяина или внутри них (включая членов *семейства Toll-подобных рецепторов*, которое мы рассмотрим позже). Клеточные рецепторы выполняют две функции: они инициируют фагоцитоз патогена и активируют в клетке хозяина программу экспрессии генов, отвечающую за реакции врожденного иммунитета. Некоторые компоненты комплемента также участвуют в фагоцитозе, а в некоторых случаях — и в непосредственном уничтожении патогена, о чем мы теперь и поговорим.

24.3.3. Активация комплемента делает патоген мишенью для фагоцитоза или лизиса

Система комплемента состоит приблизительно из 20 взаимодействующих растворимых белков, которые синтезируются главным образом в печени и циркулируют в крови и внеклеточной жидкости. Большинство из них неактивно до тех пор, пока не будет приведено в действие инфекцией. Первоначально их идентифицировали по способности усиливать и «комплементировать» (дополнять) действие антител, но некоторые компоненты комплемента также являются паттерн-распознающими рецепторами, напрямую активируемыми микробоспецифичными иммуностимуляторами.

Сначала активируются *ранние компоненты комплемента*. Существует три набора ранних компонентов, принадлежащих трем разным путям активации комплемента — *классическому, лектиновому и альтернативному пути*. Ранние компоненты всех путей действуют локально и активируют компонент С3, наиболее важный компонент комплемента (*рис. 24.48*). Индивиды, у которых отсутствует компонент С3, подвержены постоянным бактериальным инфекциям. Ранние компоненты — проферменты, последовательно активируемые путем протеолитического расщепления. Расщепление каждого очередного профермента активирует следующий компонент, который становится сериновой протеазой, в свою очередь, расщепляющей следующий по ряду профермент, и так далее. Так как каждый активированный фермент расщепляет много молекул следующего в этой цепи профермента, активация ранних компонентов представляет собой амплифицирующийся *протеолитический каскад*.

Во многих из этих реакций расщепления происходит высвобождение биологически активного маленького пептидного фрагмента, который может привлекать фагоцитирующие клетки типа нейтрофилов, и более крупного фрагмента, связывающегося с мембраной. Связывание большого фрагмента с клеточной мембраной (обычно это поверхность патогена) способствует протеканию следующего звена в цепи реакций. Таким образом, процесс активации комплемента ограничен в основном поверхностью той клетки, где она началась. Более крупный фрагмент компонента С3, названный С3b, ковалентно связывается с поверхностью патогена, куда привлекает фрагменты расщепленных компонентов С2 и С3 с целью образования протеолитического комплекса (С4b, С2b, С3b), который катализирует последующие шаги в каскаде активации комплемента. Специальные рецепторы на фагоцитирующих клетках, которые усиливают способность этих клеток фагоцитировать патоген,

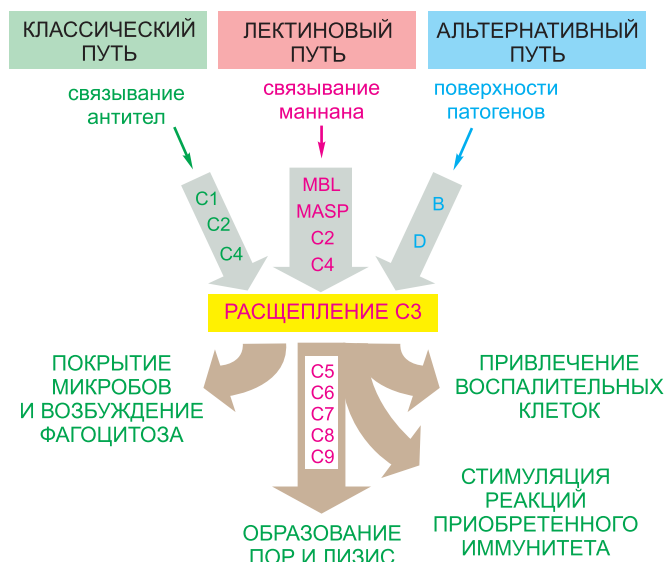


Рис. 24.48. Основные стадии активации комплемента по классическому, лектиновому и альтернативному путям. Во всех трех случаях реакции активации комплемента обычно протекают на поверхности вторгшегося микроба (бактерии) и ведут к расщеплению компонента C3. Центральными компонентами системы комплемента выступают: компоненты C1–C9, манноз-связывающий лектин (MBL), MBL-ассоциированная сериновая протеаза (MASP) и компоненты В и D; прочие компоненты регулируют эту систему. Ранние компоненты обозначены на поле *серых стрелок*, в то время как поздние компоненты обозначены в зоне *коричневой стрелки*.

также распознают фрагмент C3b. Кроме того, фрагмент C3b узнают рецепторы на В-клетках, что объясняет, отчего покрытые фрагментом C3b патогены особенно эффективно стимулируют В-клетки на выработку антител (обсудим это в главе 25). Меньший фрагмент компонента C3 (названный C3a), а также фрагменты компонентов C4 и C5 (см. рис. 24.48) действуют независимо как способные к диффузии сигналы, запускающие воспалительную реакцию за счет привлечения фагоцитов и лимфоцитов к участку заражения.

Молекулы антител IgG или IgM (описаны в главе 25), связанные с поверхностью микроба, активируют **классический путь**. **Маннозсвязывающий, или манноз-связывающий, лектин** (белок, который инициирует второй путь активации комплемента) — сывороточный белок, который образует кластеры из шести углевод-связывающих головок, расположенных вокруг центрального коллагеноподобного стебелька. Эта сборка специфично связывается с остатками маннозы и фукозы в бактериальных клеточных стенках, которые имеют соответствующее расположение и ориентацию, в силу чего идеально «вписываются» в шесть углевод-связывающих сайта; это — хороший пример паттерн-распознающего рецептора. Эти первичные события связывания в классическом и лектиновом путях обуславливают привлечение и активацию ранних компонентов комплемента. Часто молекулы на поверхности патогенов активируют **альтернативный путь**; активация классического или лектинового путей обуславливает также и активацию альтернативного пути, в результате чего образуется положительная обратная связь, которая усиливает эффекты классического или лектинового пути.

Клетки хозяина продуцируют различные белки и осуществляют разные модификации поверхности, что предотвращает протекание реакций комплемента на клеточной поверхности. Наиболее важный из таких факторов — остаток специфического углевода — сиаловой кислоты — обычной составляющей гликопротеинов и гликолипидов клеточной поверхности. Поскольку патогены в большинстве своем не имеют на своей поверхности этих компонентов, они избирательно уничтожаются, в то время как клетки хозяина остаются нетронутыми. Но по крайней мере один патоген — бактерия *Neisseria gonorrhoeae*, которая вызывает гонорею (заболевание, передающееся половым путем), — развил в себе способность использовать эту особенность самозащиты хозяина в своих целях. Покрытый слоем сиаловой кислоты, паразит эффективно скрывается от системы активации комплемента.

Иммобилизованный на мембране фрагмент C3b, образующийся в ходе любого из этих трех путей, запускает дальнейший каскад реакций, который ведет к сборке поздних компонентов комплемента с целью формирования *мембраноатакующих комплексов* (рис. 24.49). Эти комплексы собираются в мембране патогена около участка активации компонента C3 и имеют характерный вид на электронных микрофотографиях после негативного контрастирования, где видно, как они формируют водные поры, пронизывающие мембрану клетки (рис. 24.50). По этой причине, а также благодаря нарушению структуры близлежащего липидного бислоя, мембрана становится легко проницаемой, а в некоторых случаях, происходит полный лизис бактериальной клетки — почти как в случае с дефенсинами, упомянутыми ранее.

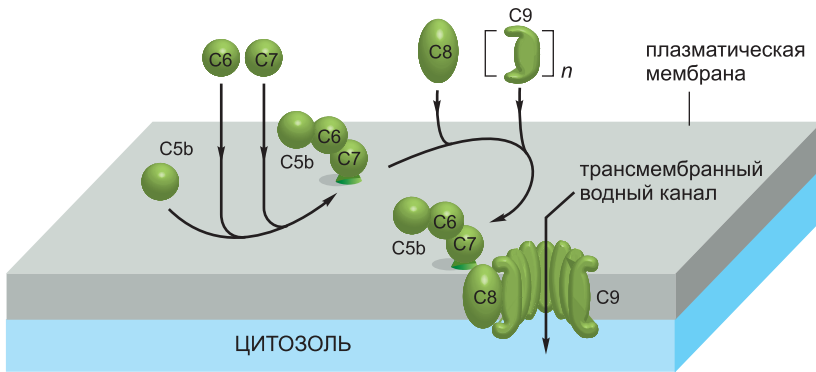


Рис. 24.49. Сборка поздних компонентов комплемента с целью формирования мембраноатакующего комплекса. Когда в результате любого из трех путей активации комплемента образуется фрагмент C3b, он иммобилизуется на мембране, куда привлекает фрагменты C4b и C2b для формирования протеолитического комплекса. Затем этот комплекс расщепляет первый из поздних компонентов, а именно C5, с высвобождением фрагментов C5a (не показан) и C5b. Фрагмент C5b остается слабо связанным с фрагментом C3b (не показан) и быстро объединяется с компонентами C6 и C7, в результате чего образуется комплекс C567, который, в свою очередь, прочно связывается через компонент C7 с мембраной, как показано на рисунке. К этому комплексу присоединяется одна молекула компонента C8 и образуется комплекс C5678. Связывание молекулы компонента C9 с комплексом C5678 индуцирует конформационное изменение в компоненте C9, что приводит к обнажению гидрофобной области и встраиванию C9 в липидный бислой мембраны клетки-мишени. Это запускает цепную реакцию, в ходе которой видоизмененный компонент C9 связывает вторую молекулу компонента C9, которая может далее связать следующую молекулу компонента C9, и так далее. Таким образом из цепи молекул компонента C9 в мембране формируется большой трансмембранный канал.

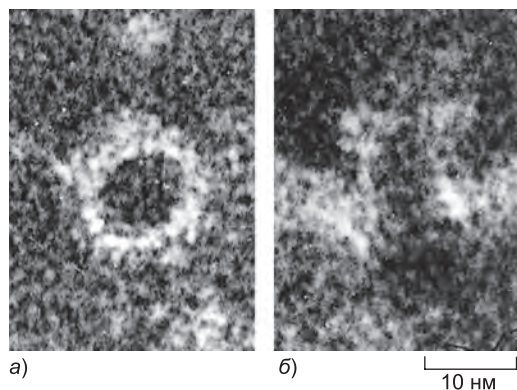


Рис. 24.50. Электронные микрофотографии после негативного контрастирования повреждений, нанесенных комплементом в плазматической мембране эритроцита. На снимке *a* повреждение представлено анфас, в то время как на фото *б* приведен его вид сбоку, где отчетливо виден трансмембранный канал. Негативный краситель заполняет каналы, которые поэтому выглядят черными. Этот эритроцит предварительно сделали восприимчивым к лизису, вызываемому системой комплемента. (Снимки заимствованы из R. Dourmashkin, *Immunology* 35: 205–212, 1978. С любезного разрешения Blackwell Publishing.)

Поскольку каскад комплемента действует как самоусилитель, он способен вызывать воспаление и может приводить к разрушению клеток, поэтому необходимо, чтобы ключевые активируемые компоненты могли быть быстро инактивированы вскоре после их появления, — тогда атака не распространится на близлежащие клетки хозяина. Такая инактивация осуществляется по крайней мере двумя путями. Во-первых, специфичные белки-ингибиторы, содержащиеся в крови или на поверхности клеток хозяина, останавливают каскад путем связывания или расщепления некоторых компонентов, стоит им только активироваться в результате протеолитического расщепления. Во-вторых, многие из активированных компонентов каскада нестабильны: если они не связываются незамедлительно с другим соответствующим компонентом комплемента в каскаде или с близлежащей мембраной, то они быстро становятся неактивными.

24.3.4. Toll-подобные белки и белки NOD — древнейшее семейство паттерн-распознающих рецепторов

Многие паттерн-распознающие рецепторы, отвечающие за возбуждение реакций врожденного иммунитета на патогены, представлены членами семейства **Toll-подобных рецепторов (TLR, Toll-like receptor)**. Белок Toll дрозофилы — трансмембранный белок с крупным внеклеточным доменом, состоящим из ряда лейцин-богатых повторов (см. рис. 15.82). Первоначально его открыли в качестве белка, вовлеченного в организацию дорсовентральной (спинно-брюшной) полярности в развивающихся зародышах мухи (обсуждалось в главе 22). Однако он задействован также и в обеспечении устойчивости взрослой мухи к грибковым инфекциям. Внутриклеточный путь передачи сигналов, активируемый вслед за активацией белка Toll, когда муха подвергается нападению болезнетворного гриба, ведет к транслокации белка NFκB (мы обсуждали это в главе 15) в ядро, где он активирует транскрипцию различных генов, включая и те, что кодируют противогрибковые дефенсины. Лейцин-богатые повторы, которые присутствуют в белках рецептора Toll и TLR, — универсальные структурные мотивы, необходимые для связывания широкого спектра разнообразных лигандов. Наряду с важной ролью как у животных, так и у растений в распознавании патогенов, белки с лейцин-богатыми повторами задействованы в передаче сигналов, репарации ДНК, а также в межклеточной адгезии и прикреплении клеток к матриксу.

Человек имеет по крайней мере 10 рецепторов TLR, и некоторые из них выполняют значимые функции в процессе распознавания микробоспецифичных

иммуностимуляторов, вырабатываемых бактериями, вирусами, грибами и паразитами. Разные лиганды активируют разные рецепторы TLR: к примеру, рецептор TLR4 опознает липополисахарид (ЛПС) наружной мембраны грамотрицательных бактерий, рецептор TLR9 опознает неметилированную CpG ДНК, а рецептор TLR5 опознает белок, который образует жгутик бактерии (флагеллин). Большинство рецепторных белков TLR располагается на поверхности клеток; например, они весьма многочисленны на поверхности макрофагов, дендритных клеток и нейтрофилов, а также на поверхности эпителиальных клеток, выстилающих дыхательные пути и желудочно-кишечный тракт. Есть, однако, такие, которые связаны с внутриклеточными мембранами, где они могут обнаруживать внутриклеточные патогены. Рецепторные белки TLR действуют как сигнализация, предупреждающая системы врожденного и приобретенного иммунитета о назревающей инфекции. У млекопитающих они активируют целое множество внутриклеточных путей передачи сигналов, которые, в свою очередь, стимулируют транскрипцию сотен генов, в особенности тех, что задействованы в воспалительном ответе (обсудим их ниже) и помогают запускать реакции приобретенного иммунитета (рис. 24.51).

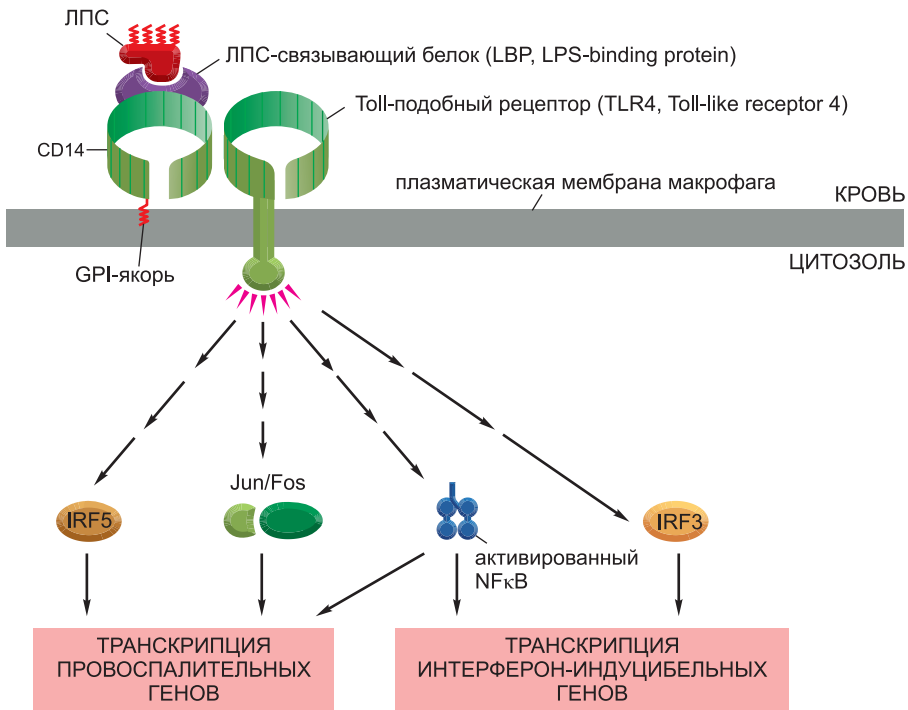


Рис. 24.51. Активация макрофага липополисахаридом (ЛПС). ЛПС связывается с ЛПС-связывающим белком (LBP, LPS-binding protein) в крови, и этот комплекс связывается с закрепленным на GPI-якоре белком CD14 на поверхности макрофага. Далее тройной комплекс активирует Toll-подобный рецептор 4 (TLR4, Toll-like receptor 4), который со своей стороны активирует множество нижеследующих внутриклеточных сигнальных путей. В итоге активируется по крайней мере четыре регулирующих гена белка: NFκB, комплекс AP1, состоящий из белков Jun и Fos, и два регулирующих интерфероны фактора — IRF3 и IRF5. Эта мощная, многогранная транскрипционная реакция выливается в производство интерферонов и провоспалительных цитокинов, включая хемокины, которые привлекают к участку активации макрофага разнообразные лейкоциты; она соответствует степени опасности, ощущаемой макрофагом, когда он чувствует высокую концентрацию ЛПС.

Второе семейство паттерн-распознающих рецепторов действует исключительно внутриклеточно. Их называют **белками NOD** и они тоже имеют мотивы, состоящие из лейцин-богатых повторов. Кроме того, они подобны белкам TLR еще и в функциональном отношении, но опознают иной набор лигандов, включая компоненты бактериальной клеточной стенки. Различные аллельные формы белков NOD и TLR, экспрессируемые разными индивидуумами, оказывают существенное влияние на восприимчивость последних к некоторым инфекционным болезням; например, специфические полиморфизмы в белках TLR4 и TLR5 сопряжены с восприимчивостью к *Legionella pneumophila*, а у людей, экспрессирующих специфический аллель NOD2, очень повышена вероятность поражения болезнью Крона — хроническим воспалительным заболеванием тонкого кишечника предположительно бактериальной природы.

У всех многоклеточных организмов в систему врожденного иммунитета входят белки, родственные белкам Toll, TLR и NOD. Растениям белки с лейцин-богатыми повторами и с доменами, гомологичными цитозольной части белка TLR, необходимы для приобретения устойчивости к грибковым, бактериальным и вирусным патогенам (рис. 24.52). Таким образом, по крайней мере два семейства белков, работающих в системе врожденного иммунитета, — дефенсины и семейства TLR и NOD, — очень древние в эволюционном отношении, возможно их появление предшествовало расхождению линий животных и растений более миллиарда лет назад. Их консервативность в ходе эволюции подчеркивает значимость реакций врожденного иммунитета в защите организма от микробных патогенов.

24.3.5. Фагоцитирующие клетки отыскивают, поглощают и уничтожают патогены

У всех животных — беспозвоночных и позвоночных — после распознавания микробного захватчика обычно быстро следует его поглощение фагоцитирующей клеткой. Растения же не могут развивать такого типа реакции врожденного иммунитета. У позвоночных животных роль профессиональных фагоцитов играют макро-



Рис. 24.52. Заболевание микробного происхождения у растения. Представленные на снимке листья томата заражены грибом листовой гнили *Cladosporium fulvum*. Устойчивость к такого типа инфекции зависит от способности рецепторов клетки хозяина, которые в структурном отношении родственны белкам TLR, опознавать грибковый белок. (Снимок любезно предоставлен Jonathan Jones.)

фаги, которые присутствуют во всех тканях организма и особенно многочисленны в областях, наиболее подверженных заражению, например, в дыхательных путях и желудочно-кишечном тракте. Кроме того, они присутствуют в больших количествах в соединительных тканях, печени и селезенке. Эти долгоживущие клетки патрулируют ткани и одними из первых сталкиваются с вторгшимися микробами. Второй основной тип профессиональных фагоцитирующих клеток у позвоночных животных представлен *нейтрофилами*. В отличие от макрофагов, они недолговечны, имеются в избытке в крови и отсутствуют в нормальных здоровых тканях. Они быстро привлекаются в участки заражения активированными макрофагами, такими молекулами, как содержащие формилметионин пептиды, выпускаемые микробами и пептидными фрагментами расщепленных компонентов комплемента. Нейтрофилы способны детектировать происходящие из комплемента хемоаттрактанты, даже если их концентрация не выше 10^{-11} моль/литр.

Макрофаги и нейтрофилы экспонируют на своей поверхности множество рецепторов, которые позволяют им опознавать и поглощать патогены. Среди них — паттерн-распознающие рецепторы, такие как TLR, рецепторы антител, производимых системой приобретенного иммунитета, и рецепторы фрагмента C3b системы комплемента. Связывание с любым из этих рецепторов приводит к полимеризации актина в участке контакта с патогеном, вследствие чего плазматическая мембрана фагоцита окружает патоген и захватывает его в крупную окруженную мембраной фагосому (рис. 24.53). Несмотря на то что некоторые бактерии в ходе реализации одного из механизмов заражения сами могут активно стимулировать клетку хозяина (например, эпителиальную) к тому, чтобы она их фагоцитировала (см. рис. 24.25), обычно фагоцитоз макрофагом или нейтрофилом ведет к смерти поглощенного патогена. Неудивительно, что некоторые патогены используют специальные механизмы, чтобы избежать фагоцитоза макрофагами или нейтрофилами. Одна стратегия состоит в том, чтобы выделять толстый слизистый слой полисахаридов, называемый *капсулой*, который препятствует доступу компонентов комплемента к поверхности бактерии и, кроме того, физически затрудняет связывание фагоцитирующей клеткой бактерии и поглощение последней. Другая стратегия, используемая, например, *Yersinia pestis* (бактерия-возбудитель чумы), состоит в том, чтобы через систему секреции III типа доставить в макрофаг токсин (см. рис. 24.8), который нарушает сборку актинового цитоскелета и тем самым предотвращает фагоцитоз.

Когда макрофаг или нейтрофил поглощает патоген, то направляет на него весь свой внушительный арсенал оружия, чтобы убить. Контакт с микробспецифичными иммуностимуляторами и химическими сигналами, испускаемыми в ходе иммунной реакции на патоген, усиливает способности фагоцитов поглощать и убивать патогены.

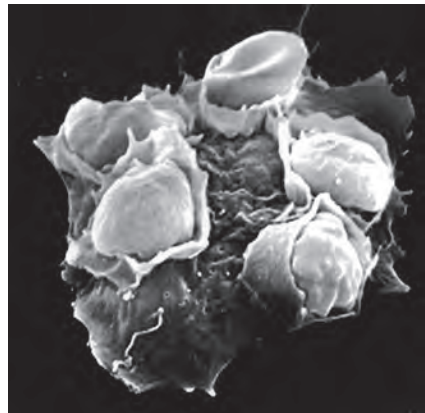


Рис. 24.53. Фагоцитоз. На этом микрофотоснимке, полученном с помощью сканирующего электронного микроскопа, представлен макрофаг, поглощающий пять эритроцитов, которые покрыты антителами к поверхностному гликопротеину. (Снимок заимствован из E. S. Gold et al., *J. Exp. Med.* 190: 1849–1856, 1999. С любезного разрешения The Rockefeller University Press.)

10 мкм

Такой контакт, как говорят, «активирует» фагоцит, переводя его в состояние повышенной боевой готовности, в котором он не только является более эффективным в деле фагоцитирования и уничтожения патогенов, но также и выпускает цитокины, чтобы привлечь к участку заражения как можно больше лейкоцитов. Вооружение фагоцита можно легко наблюдать в световой или электронный микроскоп в виде плотных охваченных мембраной органелл, называемых *гранулами*. Эти специализированные производные лизосом сливаются с фагосомами, доставляя туда ферменты типа лизоцима и кислотных гидролаз, которые могут разрушать клеточную стенку и белки патогена. Гранулы содержат также дефенсины, антибактериальные пептиды, которые составляют около 15% всей белковой массы нейтрофилов. Вдобавок фагоцит собирает на мембране фаголизосомы *комплексы NADPH-оксидазы*, которые катализируют синтез крайне токсичных производных кислорода, включая супероксид (O_2^-), гипохлорит (HOCl, активный компонент отбеливателей), перекись водорода и гидроксильные радикалы. Производство этих ядовитых соединений сопряжено с кратковременным увеличением потребления кислорода фагоцитирующими клетками, получившим название *дыхательного взрыва*. Однако не только эти чрезвычайно химически активные производные кислорода повреждают патоген, пойманный в фаголизосоме. За счет действия NADPH-оксидазы в фаголизосоме переносятся электроны и возникает компенсационное движение ионов K^+ совместно с электронами, в результате чего повышается рН фаголизосомы. При высоком значении рН в фаголизосоме активируется группа мощных нейтральных протеаз, которые до слияния с фагосомой хранились в неактивном состоянии за счет низких значений рН лизосомной гранулы. Нейтральные протеазы быстро уничтожают незадачливые патогены, попавшиеся в фаголизосому. В то время как макрофаги обычно выживают после уничтожения патогенов и живут, чтобы убивать снова, нейтрофилы, как правило, гибнут. Главный компонент гноя, образующегося в сильно зараженных ранах, — это мертвые и умирающие нейтрофилы. Характерный зеленоватый оттенок гноя обусловлен обилием в нейтрофилах содержащего медь фермента миелопероксидазы, которая принимает активное участие в дыхательном взрыве.

Если патоген оказывается слишком большим для успешного фагоцитоза (к примеру, если это крупный паразит типа нематоды), то вокруг захватчика собирается целая группа макрофагов, нейтрофилов или эозинофилов (мы обсуждали это в главе 23). Посредством экзоцитоза они выделяют свои дефенсины и другие бактерицидные продукты, содержащиеся в их гранулах, а также выпускают ядовитые продукты дыхательного взрыва ([рис. 24.54](#)). Обычно столь мощного шквала вполне достаточно для уничтожения патогена. Замечено, что в некоторых случаях нейтрофилы, наряду с содержимым своих гранул, извергают большие количества хроматина. Исторгнутая ДНК с присоединенными к ней гистонами образует липкую сеть, которая улавливает близлежащие бактерии, не оставляя им никакой возможности ко спасению ([рис. 24.55](#)). Поскольку кредо всякого нейтрофила — пожертвовать собой, но убить вторгшихся патогенов, они, не колеблясь, используют для выполнения этой задачи все доступные средства, включая и свою собственную ДНК.

24.3.6. Активированные макрофаги участвуют в развитии воспалительной реакции в очагах заражения

Когда тот или иной патоген вторгается в ткань, он почти всегда вызывает **воспалительную реакцию**. Изменения в местных кровеносных сосудах вызывают реакцию, для которой характерны боль, покраснение, высокая температура и

Рис. 24.54. Эозинофилы, атакующие личинку шистосомы. Фагоциты не могут поглощать крупных паразитов, таких как представленная на этом рисунке личинка шистосомы. Однако, когда личинка покрывается антителами или компонентом комплемента, эозинофилы (и другие лейкоциты) могут распознать ее и сообща убить, секретируя различные ядовитые молекулы. (Снимок любезно предоставлен Anthony Butterworth.)



опухание в участке заражения (вот уже несколько тысячелетий врачи определяют эти четыре признака воспаления, называемые на латыни *dolor, rubor, calor* и *turgor*). Кровеносные сосуды расширяются и становятся проницаемыми для жидкости и белков, что ведет к местному опуханию и накоплению участвующих в защите белков крови, включая компоненты каскада комплемента. В то же время эндотелиальные клетки, выстилающие местные кровеносные сосуды, стимулируются к экспрессии белков

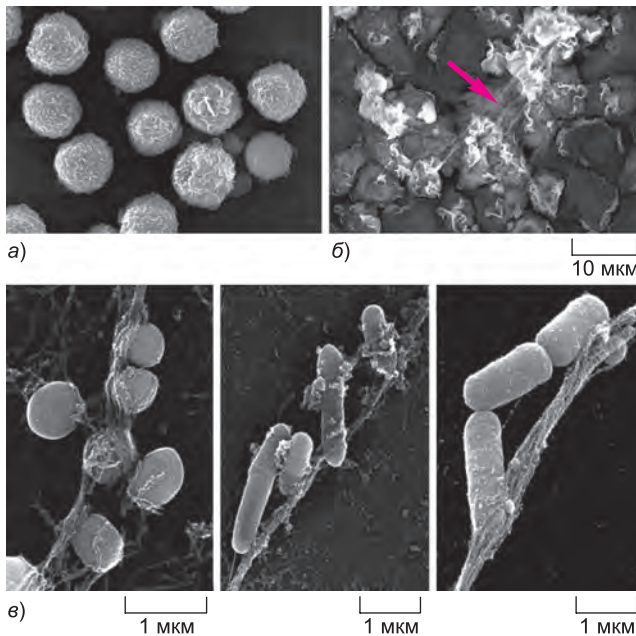


Рис. 24.55. Нейтрофилы активно выбрасывают наружу свой хроматин, чтобы поймать бактерии в липкую сеть. а) На микрофотографии, полученной с помощью сканирующего электронного микроскопа, представлены покоящиеся нейтрофилы. б) Активированные нейтрофилы имеют многочисленные поверхностные выпячивания и связаны с волокнистыми нитями (стрелка). Эти нити состоят из ДНК и гистонов и, по-видимому, представляют собой хроматин из ядра нейтрофила, который был выведен из клетки в ходе процесса активации. в) Липкий хроматин позволяет уловить бактерии многих разных видов, включая (слева направо): *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* и *Shigella flexneri*. (Снимки заимствованы из V. Brinkmann et al., *Science* 303: 1532–1535, 2004. С любезного разрешения AAAS.)

клеточной адгезии (обсуждение в главе 19), которые облегчают прикрепление и выход лейкоцитов — сначала нейтрофилов, а затем и лимфоцитов с моноцитами (предшественников макрофагов, переносимых кровотоком).

Тогда как нейтрофилы обычно умирают в участке воспаления, макрофаги часто благополучно переносят свою первую встречу со вторгшимися патогенами и могут мигрировать в другие части тела. Патогены, способные выжить внутри макрофага, например бактерия *Salmonella enterica* серотип *Typhi*, могут использовать макрофаги в качестве транспортной системы и распространить локальное заражение на отдаленные участки организма, превращая незначительное событие локального проникновения патогена в кишечник в серьезное системное заболевание брюшным тифом.

Различные сигнальные молекулы опосредуют воспалительную реакцию в участке заражения. Активация белков TLR выливается в производство и липидных сигнальных молекул типа простагландинов, и белковых (или пептидных) сигнальных молекул типа цитокинов (рассмотрены в главе 15), которые вносят совокупный вклад в воспалительную реакцию, как и фрагменты комплемента, высвобождающиеся во время его активации. Одни цитокины, вырабатываемые активированными макрофагами, — хемоаттрактанты (называемые *хемокинами*); некоторых из них привлекают нейтрофилы, представляющие собой клетки, которые первыми привлекаются в больших количествах к участку вспыхнувшего заражения. Другие цитокины вызывают *жар* — повышение температуры тела. С учетом вышесказанного, «температура» помогает бороться с инфекцией, ибо большинство патогенов бактериальной и вирусной природы размножается намного лучше при пониженных температурах, тогда как реакции приобретенного иммунитета более эффективны при повышенных температурах. Третьи провоспалительные сигнальные молекулы стимулируют эндотелиальные клетки к экспрессии белков, которые вызывают свертывание крови в местных мелких сосудах. Перекрывая сосуды и останавливая кровоток, эта реакция призвана не допустить проникновения патогена в кровоток и распространения заражения в другие части тела.

Однако те же воспалительные реакции, что помогают сдерживать локальное заражение, могут иметь катастрофические последствия, когда происходят в ответ на распространенную по всему кровотоку инфекцию; такое состояние называется *сепсисом*. Системный выпуск провоспалительных сигнальных молекул в кровь вызывает расширение кровеносных сосудов и потерю объема плазмы, которые, вместе взятые, обуславливают сильное падение кровяного давления, или *шок*; вдобавок к этому происходит повсеместное свертывание крови. В итоге случается *септический шок*, часто с летальным исходом. Нецелесообразные или чрезмерные локальные воспалительные реакции могут внести свой вклад также и в развитие хронических болезней наподобие *астмы* (рис. 24.56) и артрита.

Если одни патогены развили в себе механизмы, позволяющие им избегать губительных последствий фагоцитоза, то другие обзавелись механизмами, которые дают им возможность или предотвратить воспалительную реакцию, или, в некоторых случаях, использовать ее в своих интересах и распространить инфекцию. Например, многие вирусы кодируют мощные антагонисты цитокинов, которые блокируют звенья воспалительной реакции. Некоторые из таких антагонистов представляют собой не что иное, как видоизмененные формы рецепторов цитокинов, кодируемые генами, которые вирус изначально приобрел у генома хозяина. Они с высоким сродством связывают цитокины и блокируют их действие. Некоторые бактерии, например, *Salmonella*,

Рис. 24.56. Воспаление дыхательных путей при астме. Микрофотография среза бронха пациента, который умер во время затяжного и тяжелого приступа астмы. Произошла почти полная закупорка дыхательного пути слизистой пробкой. Пробка слизи — плотный воспалительный инфильтрат, который включает эозинофилы, нейтрофилы и лимфоциты. (Снимок любезно предоставлен Thomas Krausz.)



вызывают воспалительную реакцию в кишечнике на начальном участке заражения, тем самым созывая макрофаги и нейтрофилы, в которые они тогда и проникают. Таким вот образом бактерии распространяются «автостопом» в другие ткани организма.

24.3.7. Зараженные вирусом клетки принимают решительные меры, чтобы предотвратить его репликацию

Микробоспецифичные иммуностимуляторы на поверхности бактерий и паразитов, которые столь важны для реакций врожденного иммунитета против этих патогенов, обычно отсутствуют на поверхности вирусов. Рибосомы клетки хозяина строят вирусные белки, а липиды клетки хозяина формируют мембраны вирусов с оболочкой. Единственный способ, которым клетка хозяина может распознать присутствие любого вируса, состоит в том, чтобы обнаружить необычные элементы вирусного генома, такие, как, скажем, двухцепочечную РНК (дцРНК), которая служит промежуточным звеном в жизненном цикле многих вирусов. А в геномах ДНК-вирусов довольно часто в ощутимых количествах содержится динуклеотид CpG, который может быть опознан Toll-подобным рецептором TLR9.

Клетки млекопитающих особенно хорошо распознают дцРНК и могут мобилизовать программу внутриклеточных реакций, позволяющую от нее избавиться. Программа выполняется в два этапа. Сначала клетка деградирует дцРНК на маленькие фрагменты (около 21–25 п. н. в длину) с помощью фермента *Dicer*. Эти двухцепочечные фрагменты связываются с любой одноцепочечной РНК (оцРНК) клетки хозяина, которая имеет ту же последовательность, что и любая из цепей фрагмента дцРНК, что ведет к разрушению оцРНК. Такое направляемое дцРНК разрушение оцРНК — основа технологии *РНК-интерференции* (РНКи), которую исследователи используют для уничтожения заданных молекул мРНК и таким образом блокируют экспрессию заданных генов (обсуждалось в главе 8). Во-вторых, дцРНК побуждает клетку хозяина производить и выделять два цитокина — **интерферон-α (IFNα)** и **интерферон-β (IFNβ)**, — которые воздействуют и аутокринным способом на зараженную клетку, и паракринным образом на ее незараженных соседей. Связывание интерферонов с соответствующими рецепторами клеточной поверхности стимулирует транскрипцию определенных генов через внутриклеточный сигнальный путь Як–СТАТ (см. рис. 15.68), что ведет к производству более 300 продуктов генов, включая огромное число цитокинов; это отражает сложность острой реакции клетки на вирусную инфекцию.

По-видимому, интерфероновый ответ — характерная для любой клетки млекопитающих реакция на вирусную инфекцию, и ее могут вызывать не только молекулы

дцРНК, но и другие компоненты вирусов. Кроме влияния на транскрипцию генов клетки хозяина, интерфероны активируют покоящуюся рибонуклеазу, которая неспецифически деградирует оцРНК. Они также косвенно активируют протеинкиназу, которая фосфорилирует и инактивирует фактор инициации трансляции eIF-2, и тем самым подавляют синтез почти что всех белков в атакуемой клетке хозяина. Очевидно, что уничтожая большую часть вирусной РНК и на время приостанавливая синтез почти всех вирусных белков, клетка-хозяин тормозит репликацию вируса, не убивая себя. Если эти меры оказываются недостаточными, клетка, чтобы не дать вирусу возможности реплицироваться, совершает чрезвычайный шаг — самоубийство апоптозом, нередко с помощью лимфоцита-киллера, что мы обсудим чуть ниже, а также в главе 25.

Клетки млекопитающих имеют специальный механизм защиты, помогающий им справляться с ретровирусами. Эти вирусы активируют семейство белков по имени АРОВЕС (названных так, потому что по совместительству они входят в состав редактирующего комплекса, который модифицирует мРНК белка AroV, главного белкового компонента липопротеида низкой плотности, ЛНП). Эти ферменты дезаминируют цитозины в новосинтезированных молекулах ретровирусной кДНК, превращая их в уридин, и таким образом производят в геноме вируса большое число мутаций, что в конечном счете ведет к невозможности репликации вируса.

Неудивительно, что многие вирусы приобрели механизмы, позволяющие обезвреживать или обходить такие внутриклеточные защитные процессы. Вирус гриппа кодирует белок, который блокирует опознавание дцРНК нуклеазой Dicer. ВИЧ кодирует маленький белок, который опосредует убиквитинирование и протеасомную деградацию белков АРОВЕС. Многие вирусы, включая большинство из тех, что способны возбуждать болезнь у здоровых хозяев, при помощи различных механизмов блокируют активацию интерферонового пути. Наряду с такого рода действиями, некоторые вирусы тормозят апоптоз клетки хозяина, что в качестве побочного эффекта может способствовать развитию рака; во всяком случае, это один из путей, с помощью которых вирус Эпштейна—Барр иногда становится причиной лимфомы Беркитта.

24.3.8. **Натуральные киллеры побуждают зараженные вирусом клетки к самоуничтожению**

Интерфероны имеют также и другие, менее прямые способы блокирования репликации вирусов. Один из них состоит в усилении активности **натуральных киллеров (НК-клеток)**, которые составляют часть системы врожденного иммунитета. Как и цитотоксические Т-клетки системы приобретенного иммунитета (обсудим их в главе 25), НК-клетки уничтожают зараженные вирусом клетки, побуждая их убивать себя путем апоптоза. Однако способы, которыми цитотоксические Т-клетки и НК-клетки отличают зараженные вирусом клетки от незараженных клеток, различны.

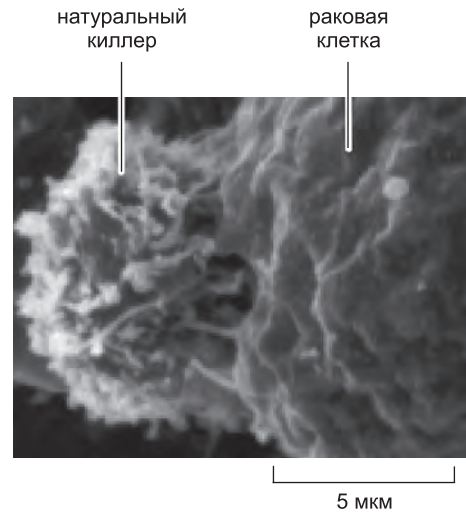
И цитотоксические Т-клетки и НК-клетки для обнаружения зараженных вирусом клеток хозяина узнают белки клеточной поверхности одного и того же специального класса; эти белки называют **белками МНС I класса**, потому что они кодируются генами главного комплекса гистосовместимости; почти все клетки позвоночных экспрессируют эти гены, и мы их подробно рассмотрим в главе 25. Цитотоксические Т-клетки распознают пептидные фрагменты вирусных белков, связанные с этими белками МНС на поверхности зараженных вирусом клеток. В отличие от них, НК-клетки отслеживают уровень белков МНС I класса на по-

верхности всех клеток хозяина: высокие уровни подавляют активность НК-клеток так, что НК-клетки выборочно убивают те клетки хозяина, которые экспрессируют эти белки на низком уровне, — главным образом, это зараженные вирусом клетки и некоторые раковые клетки (рис. 24.57)¹.

Причина, по которой уровни белков МНС I класса на поверхности зараженных вирусом клеток часто бывают низкими, состоит в том, что многие вирусы используют механизмы, ингибирующие экспрессию этих белков на поверхности зараженных ими клеток, с целью избежать обнаружения цитотоксическими Т-лимфоцитами. Аденовирус и ВИЧ, например, кодируют белки, блокирующие транскрипцию генов белков МНС I класса. Вирус простого герпеса и цитомегаловирус блокируют транслокаторы пептидов в мембране ЭР, которые транспортируют полученные в протеасоме пептидные фрагменты вирусных белков и белков клетки хозяина из цитозоля в просвет ЭР; такие пептиды требуются для сборки новосинтезированных белков МНС I класса в мембране ЭР и последующей их транспортировки через аппарат Гольджи к поверхности клетки в виде комплексов вида пептид—МНС (см. рис. 25.59). Цитомегаловирус вызывает возврат белков МНС I класса из мембраны ЭР в цитозоль, где они быстро подвергаются деградации в протеасомах. Белки, кодируемые еще одной группой вирусов, предотвращают доставку собранных белков МНС I класса из ЭР в аппарат Гольджи или из аппарата Гольджи в плазматическую мембрану.

Однако, избегая опознавания цитотоксическими Т-клетками с помощью вышеописанных способов, вирус навлекает на себя действие НК-клеток. Локальное производство $IFN\beta$ активизирует убивающую активность НК-клеток и увеличивает экспрессию белков МНС I класса в незараженных клетках. Клетки, зараженные вирусом, который блокирует экспрессию белков МНС I класса, выглядят «не такими» и становятся жертвами активированных НК-клеток. Таким образом, вирусам трудно скрыться и от цитотоксических Т-клеток и от НК-клеток одновременно. Однако интересно отметить, что некоторые внушительные ДНК-вирусы, включая цитомегаловирус, кодируют МНС-подобные белки, которые экспрессируются на поверхности зараженных ими клеток хозяина. Как и настоящие белки МНС I класса, эти МНС-имитаторы активизируют ингибирующие рецепторы на НК-клетках и блокируют киллерную активность последних.

Рис. 24.57. Натуральный киллер (НК-клетка), атакующий раковую клетку. НК-клетка — меньшая клетка слева. Этот микрофотоснимок, полученный с помощью сканирующего электронного микроскопа, снят вскоре после прикрепления НК-клетки, но прежде, чем она побудила раковую клетку убивать себя. (Снимок заимствован из J. C. Hiserodt, in *Mechanisms of Cytotoxicity by Natural Killer Cell* [R. V. Herberman и D. Callewaert, eds.]. New York: Academic Press, 1995.)



¹ Строго говоря, для успешной активации НК-клеток на поверхности клетки-мишени должно быть не только малое количество молекул МНС I класса, но и достаточное количество активирующих стрессорных молекул. — *Прим. ред.*

И НК-клетки и цитотоксические Т-лимфоциты убивают зараженные клетки-мишени, побуждая их подвергнуться апоптозу до того, как вирус получит шанс реплицироваться. Поэтому не удивительно, что многие вирусы развили в себе механизмы торможения апоптоза, особенно в начале заражения. Как показано в главе 18, апоптоз зависит от внутриклеточного протеолитического каскада, который цитотоксические клетки могут запустить путем активации рецепторов смерти на клеточной поверхности или посредством введения в клетку-мишень протеолитического фермента (см. рис. 24.47). Вирусные белки способны помешать практически любому этапу этих действий клетки.

24.3.9. Дендритные клетки обеспечивают связь между системами врожденного и приобретенного иммунитета

Дендритные клетки — необычайно важные клетки системы врожденного иммунитета, которые рассеяны по всем тканям и органам позвоночных животных. Они показывают большое разнообразие паттерн-распознающих рецепторов, включая белки TLR и белки NOD, которые позволяют клеткам распознавать и фагоцитировать вторгшиеся патогены, а также активироваться в процессе распознавания. Дендритные клетки расщепляют белки патогенов на пептидные фрагменты, которые впоследствии связываются с белками МНС, а те, в свою очередь, несут эти фрагменты к поверхности клетки. После этого активированные дендритные клетки несут пептиды патогенной природы — в виде комплексов с белками МНС — к близлежащему лимфоидному органу, такому как лимфатический узел, где дендритные клетки активируют Т-клетки системы приобретенного иммунитета и побуждают их присоединиться к борьбе с определенным захватчиком. Вдобавок к комплексам белков МНС с микробными пептидами активированные дендритные клетки несут на своей поверхности также и специальные поверхностные коstimулирующие белки, которые помогают активировать Т-клетки. Активированные дендритные клетки выделяют также множество разнообразных цитокинов, которые влияют на тип опосредуемой Т-клетками реакции, и тем самым гарантируют, что она будет адекватна задачам борьбы с данным патогеном. Таким образом, дендритные клетки служат важнейшим сопрягающим звеном между системой врожденного иммунитета, которая обеспечивает быструю первую линию обороны против вторгшихся патогенов, и системой приобретенного иммунитета, которая предоставляет не такие скорые, но более мощные и очень специфические средства атаки захватчика.

Борьба между патогенами и оборонительными средствами хозяина на удивление уравновешена. В настоящее время люди, кажется, получают небольшой перевес, осуществляя санитарно-профилактические мероприятия, ставя прививки и применяя лекарства, чтобы помочь нашим системам врожденного и приобретенного иммунитета. Однако инфекционные болезни по-прежнему остаются главной причиной смерти во всем мире, и все равно время от времени возникают новые эпидемии, такие как эпидемия СПИДа. Быстрая эволюция патогенов и практически бесконечное разнообразие путей, которыми они могут проскользнуть в организм человека, и избежать иммунных реакций, никогда не позволят нам одержать полную победу.

В следующей главе мы рассмотрим уникальные и замечательные стратегии, развитые нашей системой приобретенного иммунитета для защиты нас от таких коварных противников. Что самое удивительное, эта иммунная система способна возбуждать специфичные к патогенам реакции даже против таких патогенов, которые никогда не существовали ранее.

Заключение

Физические барьеры, предотвращающие заражение, внутренние реакции клетки на инфекцию и реакции системы врожденного иммунитета служат первыми оборонительными рубежами против вторгающихся патогенов. Все многоклеточные организмы обладают этими средствами защиты. У позвоночных животных реакции врожденного иммунитета могут к тому же привлекать специфические и более мощные реакции приобретенного иммунитета. Реакции врожденного иммунитета полагаются на способность организма опознавать консервативные особенности присущих микроорганизмам молекул, которые не синтезируются хозяином. К таким микробоспецифичным иммуностимуляторам относятся молекулы многих типов на поверхностях микроорганизмов, а также двухцепочечная РНК некоторых вирусов. Многие из этих молекул опознаются паттерн-распознающими рецепторами, включая Toll-подобные рецепторы (TLR), имеющиеся и у растений, и у животных. У позвоночных животных находящиеся на поверхности микроорганизмов молекулы активируют и комплемент — группу белков крови, которые активируются каскадом с целью пометить микроорганизм для фагоцитоза макрофагами и нейтрофилами, разрушить его мембрану микроба и вызвать воспалительную реакцию. С целью уничтожения вторгшихся микроорганизмов фагоциты используют комбинацию ферментов деградации, антибактериальных пептидов и активные формы кислорода; наряду с этим, они выделяют сигнальные молекулы, которые вызывают воспалительную реакцию. Клетки, зараженные вирусами, вырабатывают интерфероны, которые вызывают в них ряд специфических реакций, тормозят репликацию вируса и активируют смертоносное действие натуральных киллеров. Дендритные клетки системы врожденного иммунитета поглощают микроорганизмы в очагах заражения и несут их вместе с продуктами их расщепления к местным лимфатическим узлам, где активируют Т-клетки системы приобретенного иммунитета, которые со своей стороны осуществляют более мощный и направленный удар по микробам.

Литература

Общая

Cossart P., Boquet P. & Normark S. (eds.) (2005) Cellular Microbiology, 2nd ed. Washington: ASM Press.

Flint S.J., Enquist L.W. et al. (2003) Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis, and Control of Animal Viruses, 2nd ed. Washington: ASM Press.

Murphy K.M. et al. (2008) Janeway's Immunobiology, 7th ed. New York: Garland Science.

Salyers A. & Whitt D.D. (2001) Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach, 2nd ed. Washington: ASM Press.

Schaechter M. (ed.) (1998) Mechanisms of Microbial Disease, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins.

Знакомство с патогенами

Baltimore D. (1971) Expression of animal virus genomes. *Bacteriol. Rev.* 35: 235–241.

- Bozdech Z., Llinas M., Pulliam B.L. et al. (2003) The transcriptome of the intraerythrocytic developmental cycle of *Plasmodium falciparum*. *PLoS Biol.* 1: E5.
- Brown N.F., Wickham M.E., Coombes B.K. & Finlay B.B. (2006) Crossing the line: selection and evolution of virulence traits. *PLoS Pathog.* 2: e42.
- Crick F.H.C. & Watson J.D. (1956) Structure of small viruses. *Nature* 177: 374–475.
- Gal-Mor O. & Finlay B.B. (2006) Pathogenicity islands: a molecular toolbox for bacterial virulence. *Cell Microbiol.* 8: 1707–1719.
- Galan J.E. & Wolf-Watz H. (2006) Protein delivery into eukaryotic cells by type III secretion machines. *Nature* 444: 567–573.
- Hacker J. & Kaper J.B. (2000) Pathogenicity islands and the evolution of microbes. *Annu. Rev. Microbiol.* 54: 641–679.
- Heidelberg J.F., Eisen J.A., Nelson W.C. et al. (2000) DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *Vibrio cholerae*. *Nature* 406: 477–483.
- Lorber B. (1996) Are all diseases infectious? *Annu. Intern. Med.* 125: 844–851.
- Poulin R. & Morand S. (2000) The diversity of parasites. *Q. Rev. Biol.* 75: 277–293.
- Prusiner S.B. (1996) Molecular biology and genetics of prion diseases. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 61: 473–493.
- Rappleye C.A. & Goldman W.E. (2006) Defining virulence genes in the dimorphic fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* 60: 281–303
- Rixon F.J. (1990) Structure and assembly of herpesviruses. *Semin. Virol.* 1: 477–487.
- Stebbins C.E. & Galan J.E. (2001) Structural mimicry in bacterial virulence. *Nature* 412: 701–705.

Клеточная биология заражения

- Baranowski E., Ruiz-Jarabo C.M. & Domingo E. (2001) Evolution of cell recognition by viruses. *Science* 292: 1102–1105.
- Berger E.A., Murphy P.M. & Farber J.M. (1999) Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annu. Rev. Immunol.* 17: 657–700.
- Cossart P. & Sansonetti P.J. (2004) Bacterial invasion: the paradigms of enteroinvasive pathogens. *Science* 304: 242–248.
- Deitsch K.W., Moxon E.R. & Wellems T.E. (1997) Shared themes of antigenic variation and virulence in bacterial, protozoal, and fungal infections. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 61: 281–293.
- Garoff H., Hewson R. & Opstelten D.J. (1998) Virus maturation by budding. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 1171–1190.
- Ghedini E., Sengamalay N.A., Shumway M. et al. (2005) Large-scale sequencing of human influenza reveals the dynamic nature of viral genome evolution. *Nature* 437: 1162–1166.
- Goldberg M.B. (2001) Actin-Based Motility of Intracellular Microbial Pathogens. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 65: 595–626.
- Hackstadt T. (2000) Redirection of host vesicle trafficking pathways by intracellular parasites. *Traffic* 1: 93–99.
- Jones N.C. (1990) Transformation by the human adenoviruses. *Semin. Cancer Biol.* 1: 425–435.

Kaariainen L. & Ranki. M (1984) Inhibition of cell functions by RNA-virus infections. *Annu. Rev. Microbiol.* 38: 91–109.

Keeling P.J. & Fast N.M. (2002) Microsporidia: biology and evolution of highly reduced intracellular parasites. *Annu. Rev. Microbiol.* 56: 93–116.

Kenny B., DeVinney R., Stein M. et al. (1997) Enteropathogenic E coli (EPEC) transfers its receptor for intimate adherence into mammalian cells. *Cell* 91: 511–520.

Knodler L.A., Celli J. & Finlay B.B. (2001) Pathogenic trickery: deception of host cell processes. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2: 578–88.

Lyles D.S. (2000) Cytopathogenesis and inhibition of host gene expression by RNA viruses. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64: 709–724.

Mullins J.I. & Jensen M.A. (2006) Evolutionary dynamics of HIV-1 and the control of AIDS. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 299: 171–192.

Overbaugh J. & Bangham C.R. (2001) Selection forces and constraints on retroviral sequence variation. *Science* 292: 1106–1109.

Parrish C.R. & Kawaoka Y. (2005) The origins of new pandemic viruses: the acquisition of new host ranges by canine parvovirus and influenza A viruses. *Annu. Rev. Microbiol.* 59: 553–586.

Pizarro-Cerda J. & Cossart P. (2006) Bacterial adhesion and entry into host cells. *Cell* 124: 715–727.

Poranen M.M., Daugelavicius R. & Bamford D.H. (2002) Common principles in viral entry. *Annu. Rev. Microbiol.* 56: 521–538.

*Sibley L.D. & Andrews N.W. (2000) Cell invasion by un-palatable parasites. *Traffic* 1: 100–106.

Skehel J.J. & Wiley D.C. (2000) Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu. Rev. Biochem.* 69: 531–569.

Sodeik B. (2000) Mechanisms of viral transport in the cytoplasm. *Trends Microbiol.* 8: 465–472.

Stephens E.B. & Compans R.W. (1988) Assembly of animal viruses at cellular membranes. *Annu. Rev. Microbiol.* 42: 489–516.

Tilney L.G. & Portnoy D.A. (1989) Actin filaments and the growth, movement, and spread of the intracellular bacterial parasite, *Listeria monocytogenes*. *J. Cell Biol.* 109: 1597–1608.

Walsh C. (2000) Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature* 406: 775–781.

Wright G.D. (2007) The antibiotic resistome: the nexus of chemical and genetic diversity. *Nature Rev. Microbiol.* 5: 175–186.

Барьеры против инфекции и система врожденного иммунитета

Aderem A. & Underhill D.M. (1999) Mechanisms of phagocytosis in macrophages. *Annu. Rev. Immunol.* 17: 593–623.

Banchereau J., Briere F, Caux C. et al. (2000) Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 18: 767–811.

Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C. et al. (2004) Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 303: 1532–1535.

Ganz T. & Lehrer R.I. (1998) Antimicrobial peptides of vertebrates. *Curr. Opin. Immunol.* 10: 41–44.

Girardin S. E., Sansonetti P. J. & Philpott D. J. (2002) Intracellular vs extracellular recognition of pathogens – common concepts in mammals and flies. *Trends Microbiol.* 10: 193–199.

Guidotti L. G. & Chisari F. V. (2001) Noncytolytic control of viral infections by the innate and adaptive immune response. *Annu. Rev. Immunol.* 19: 65–91.

Hedrick S. M. (2004) The acquired immune system: a vantage from beneath. *Immunity* 21: 607–615.

Janeway C. A. Jr. & Medzhitov R. (2002) Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 20: 197–216.

Kimbrell D. A. & Beutler B (2001) The evolution and genetics of innate immunity. *Nature Rev. Genet.* 2: 256–267.

Kopp E. & Medzhitov R. (2003) Recognition of microbial infection by Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 15: 396–401

Muller-Eberhard H. J. (1988) Molecular organization and function of the complement system. *Annu. Rev. Biochem.* 57: 321–347.

Murphy P. M. (2001) Viral exploitation and subversion of the immune system through chemokine mimicry. *Nature Immunol.* 2: 116–122.

Ploegh H. L. (1998) Viral strategies of immune evasion. *Science* 280: 248–253.

Segal A. W. (2005) How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.* 23: 197–223.

Super M. & Ezekowitz R. A. (1992) The role of mannose-binding proteins in host defense. *Infect. Agents Dis.* 1: 194–199.

Tomlinson S. (1993) Complement defense mechanisms. *Curr. Opin. Immunol.* 5: 83–89.

Yang R. B., Mark M. R., Gray A. et al. (1998) Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. *Nature* 395: 284–288.

Yang D., Biragyn A., Kwak L. W. & Oppenheim J. J. (2002) Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. *Trends Immunol.* 23: 291–296.

Yokoyama W. M., Kim S. & French A. R. (2004) The dynamic life of natural killer cells. *Annu. Rev. Immunol.* 22: 405–429

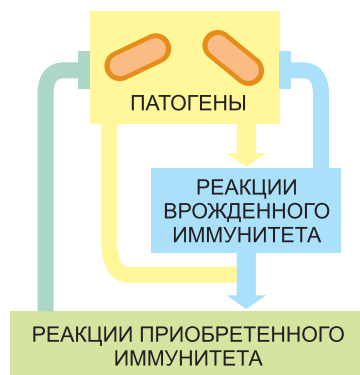
Система приобретенного иммунитета

Система приобретенного иммунитета постоянно оберегает нас от смерти, вызванной болезнетворной инфекцией. Младенец, рожденный с серьезными нарушениями системы приобретенного иммунитета, вскоре умрет, если не предпринять чрезвычайных мер по его изоляции от носителей возбудителей всевозможных заболеваний (бактерий, вирусов, грибов и паразитов). Всем многоклеточным организмам приходится на протяжении всей своей жизни защищаться от инфекции в лице таких потенциально вредоносных захватчиков, вкуче называемых **патогенами**. Беспозвоночные используют относительно простые стратегии защиты, в которых полагаются в основном на защитные барьеры, токсины и фагоцитирующие клетки, заглатывающие и уничтожающие вторгшиеся микроорганизмы (*микробов*) и более крупных паразитов (таких как черви). Позвоночные тоже используют такие **реакции врожденного иммунитета**, но они выступают как первая линия защиты (обсуждалось в главе 24), дополнительно же могут привлекаться намного более мощные и сложные защитные механизмы, называемые **реакциями приобретенного иммунитета**. У позвоночных реакции врожденного иммунитета запускают реакции приобретенного иммунитета, и совместное действие обеих систем приводит к освобождению организма от патогенов (**рис. 25.1**).

Если реакции врожденного иммунитета — это неспецифические защитные реакции, то реакции приобретенного иммунитета крайне специфичны к вызвавшему их патогену и обеспечивают длительную защиту. Скажем, человек, один раз переболевший корью, защищен от нее на всю жизнь системой приобретенного иммунитета, хотя не защищен от других распространенных вирусов (например, вирусов, вызывающих паротит или ветрянку). В этой главе мы сосредоточиваем наше внимание на реакциях приобретенного иммунитета и всякий раз, используя выражение «иммунный ответ», имеем в виду именно их.

Реакции приобретенного иммунитета обезвреживают или уничтожают вторгшихся патогенов и все выделяемые ими токсины. Поскольку эти реакции

Рис. 25.1. Реакции врожденного и приобретенного иммунитета. Реакции врожденного иммунитета активируются непосредственно самими патогенами и защищают все многоклеточные организмы от заражения. У позвоночных же и сами патогены, и активируемые ими реакции врожденного иммунитета запускают вдобавок реакции приобретенного иммунитета, которые совместно с реакциями врожденного иммунитета помогают организму бороться с инфекцией.



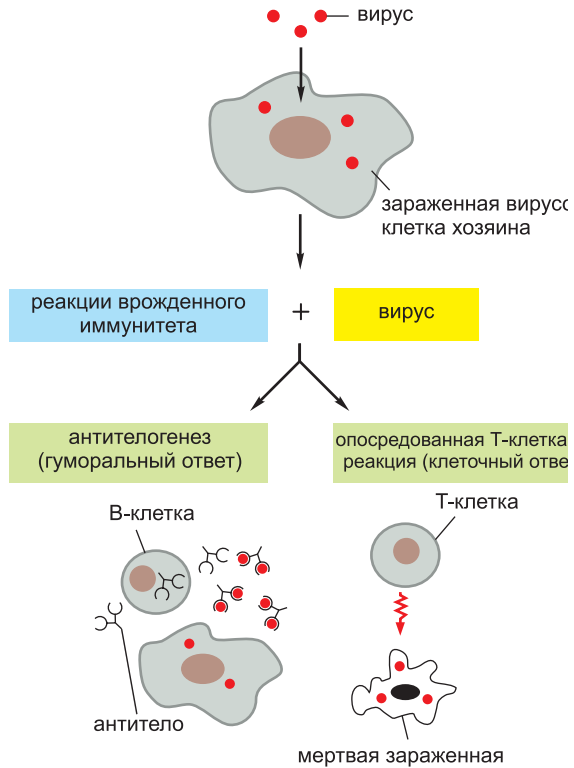
являются разрушительными, важно, чтобы они были направлены только против чужеродных агентов и не затрагивали молекулы самого хозяина. Во избежание пагубных реакций против «своих» молекул, система приобретенного иммунитета использует многочисленные механизмы. Иногда, однако, эти механизмы дают сбой, и система обращается против хозяина, становясь причиной *аутоиммунных заболеваний*, которые могут быть смертельными.

В организм попадает множество безвредных чужеродных молекул, и было бы бессмысленно и даже опасно возбуждать реакции приобретенного иммунитета против них. Аллергические состояния типа сенной лихорадки и аллергической астмы — примеры губительных реакций приобретенного иммунитета против явно безопасных чужеродных молекул. Обычно всякий здоровый организм избегает таких неуместных реакций, потому что система врожденного иммунитета запускает реакции приобретенного иммунитета только тогда, когда она опознает консервативные молекулярные структуры, которые специфично экспрессируются вторгшимися патогенами. Система врожденного иммунитета способна даже определять класс вторгшихся патогенов и выбирать наиболее эффективную для их обезвреживания форму приобретенного иммунного ответа.

Любое вещество, способное вызвать реакцию приобретенного иммунитета, называют **антигеном** (**antigen; antibody generator**). Все, что нам известно о таких реакциях, по большей части было выяснено в ходе исследований, когда экспериментатору удавалось заставить систему приобретенного иммунитета лабораторного животного (обычно это мышь) реагировать на безвредную чужеродную молекулу, например на чужеродный белок. Хитрость этого подхода заключается в инъекции безвредной молекулы совместно с иммуностимуляторами (как правило, бактериального происхождения), называемыми *адьювантами*, которые активируют систему врожденного иммунитета. Такой подход называют **иммунизацией**. При таком ведении дела практически любая макромолекула (при том условии, что она чужеродна реципиенту) может вызвать специфичную к ней реакцию приобретенного иммунитета. Примечательно, что система приобретенного иммунитета способна различать практически одинаковые антигены — скажем, два белка, отличающиеся всего лишь одной-единственной аминокислотой, или два оптических изомера одного и того же соединения. Таким образом, система приобретенного иммунитета распознает мельчайшие детали структуры макромолекул на молекулярном уровне.

Во всех реакциях приобретенного иммунитета ведущая роль принадлежит особой категории лейкоцитов, называемой **лимфоцитами**. Выделяют два основных класса таких реакций — *иммунные реакции антителообразования (гуморальный ответ)* и *опосредованные Т-клетками иммунные реакции (клеточный ответ)*, — и осуществляют их лимфоциты разных классов, называемые соответственно В-клетками и Т-клетками. В ходе **антителообразования (гуморального ответа)** В-клетки активируются, что приводит к выделению антител, представляющих собой белки *иммуноглобулины*. Антитела циркулируют в кровотоке и проникают в другие жидкости организма, где специфично связываются с чужеродным антигеном, который стимулировал их выработку (**рис. 25.2**). Присоединение антитела приводит к инактивации вирусов и микробных токсинов (типа токсина столбняка или токсина дифтерии), блокируя их способность связываться с рецепторами на поверхности клеток хозяина. Кроме того, связывание антитела служит меткой для разрушения вторгшихся патогенов и облегчает фагоцитирующим клеткам системы врожденного иммунитета их поглощение.

Рис. 25.2. Два основных класса реакций приобретенного иммунитета. Реакции обоих классов осуществляются лимфоцитами. Лимфоциты реагируют на вирусную инфекцию. В ходе реакции приобретенного иммунитета одного класса В-клетки выделяют антитела, которые обезвреживают вирус. В ходе реакции другого класса — реакции, опосредуемой Т-клетками, — зараженные вирусом клетки умерщвляются Т-клетками. В обоих случаях реакции врожденного иммунитета помогают активировать реакции приобретенного иммунитета, хотя сами пути такой активации здесь не показаны.



В ходе **опосредованных Т-клетками иммунных реакций (клеточного ответа)**, другого типа реакций приобретенного иммунитета, активированные Т-клетки непосредственно реагируют на чужеродный антиген, представленный им клеткой хозяина на своей поверхности (такие клетки принято называть *антигенпрезентирующими*

клетками или АПК). Что примечательно, Т-клетки способны обнаружить микробы, скрывающиеся внутри клетки хозяина, и могут либо убить зараженные клетки, либо помочь зараженным клеткам или каким-либо другим клеткам избавиться от микробов. Например, Т-клетка может убить зараженную вирусом клетку хозяина, несущую на своей поверхности вирусные антигены, и таким образом уничтожить зараженную клетку прежде, чем вирус успеет реплицироваться (см. рис. 25.2). В других случаях Т-клетка производит сигнальные молекулы, которые либо активируют макрофаги на уничтожение фагоцитированных ими микробов, либо помогают активировать В-клетки на выработку антител к этим микробам.

Эту главу мы начнем с обсуждения общих свойств лимфоцитов. Затем мы рассмотрим функциональные и структурные особенности антител, которые позволяют им опознавать и нейтрализовывать внеклеточных микробов и выделяемые ими токсины. Далее мы расскажем о том, за счет чего В-клетки могут производить фактически неограниченное число различных антител. Наконец, мы проанализируем особые свойства Т-клеток и опосредованные ими иммунные реакции.

25.1. Лимфоциты и клеточные основы приобретенного иммунитета

Поражающую наше воображение специфичность реакций приобретенного иммунитета обеспечивают лимфоциты. Неисчислимые их множества циркулируют в крови и лимфе (бесцветной жидкости, которой наполнены лимфатические сосуды, соединяющие лимфатические узлы друг с другом и кровотоком). Кроме того, они

сосредоточены в **лимфоидных органах**, таких как тимус, лимфатические узлы (называемые также лимфатическими железами), селезенка и аппендикс (**рис. 25.3**). В этом параграфе мы поговорим об общих свойствах лимфоцитов, присущих как В-клеткам, так и Т-клеткам.

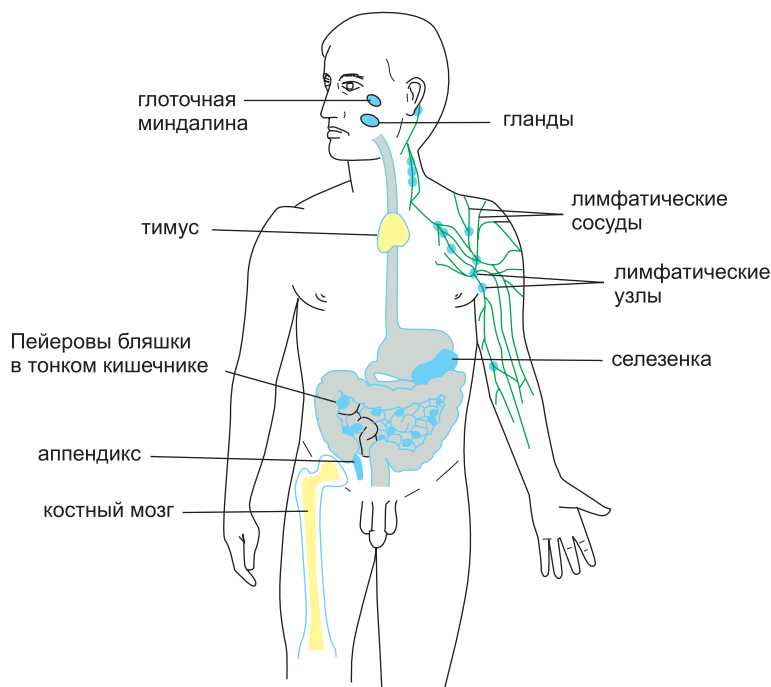


Рис. 25.3. Органы лимфатической системы человека (лимфоидные органы). Лимфоциты развиваются в тимусе и костном мозге (на рисунке изображены желтым цветом); поэтому их называют *центральными* (или *первичными*) *лимфоидными органами*. Новообразованные лимфоциты мигрируют из этих первичных органов в *периферические* (или *вторичные*) *органы лимфатической системы*, где могут реагировать на чужеродные антигены. На рисунке показаны лишь некоторые из вторичных лимфоидных органов (изображены синим цветом) и лимфатических сосудов (показаны зеленым цветом); например, много лимфоцитов находится в коже и дыхательных путях. Как будет сказано позже, лимфатические сосуды в конечном счете впадают в кровотоки (не показано).

25.1.1. Лимфоциты необходимы для работы системы приобретенного иммунитета

В организме человека находится примерно $2 \cdot 10^{12}$ лимфоцитов, в силу чего иммунная система по клеточной массе сопоставима с печенью или мозгом. Несмотря на такое большое количество лимфоцитов, их ключевая роль в системе приобретенного иммунитета была окончательно установлена лишь к концу 1950-х гг. Решающими оказались эксперименты над мышами и крысами, которые были сильно облучены с целью убить большинство их белых клеток крови, включая и лимфоциты. После такой процедуры животные теряли всякую способность к приобретенному иммунному ответу. Затем этим животным пересаживали различные типы клеток, чтобы определить, какие именно клетки способны компенсировать утрату. Клетками одного-единственного типа, способными восстановить реакции

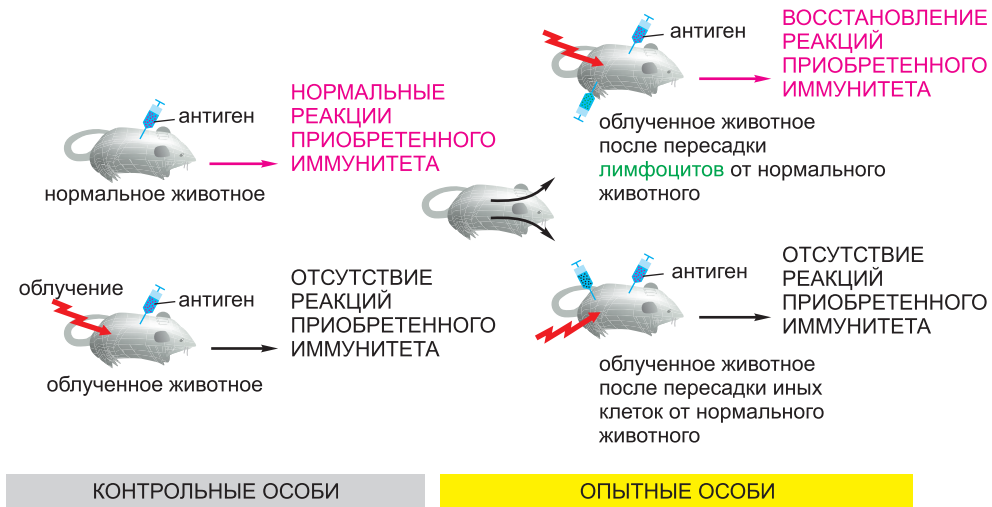


Рис. 25.4. Классический эксперимент, показывающий, что для развития реакций приобретенного иммунитета на чужеродные антигены требуется участие лимфоцитов. При постановке экспериментов с пересадкой клеток необходимо соблюдать одно важное требование — клетки должны пересаживаться между животными из одной и той же *инбредной линии*. Все особи из такой близкородственной линии генетически идентичны. Если облученному животному пересаживают лимфоциты от генетически отличающейся особи, то они реагируют против «чужеродных» антигенов хозяина и могут убить его. В представленном на рисунке эксперименте инъекция лимфоцитов восстанавливает и вызываемые антителами, и опосредованные Т-клетками реакции приобретенного иммунитета, указывая на то, что основу реакций обоих типов составляют лимфоциты.

приобретенного иммунитета у облученных животных, оказались лимфоциты, что показало их ключевую роль в развитии приобретенного иммунного ответа (рис. 25.4).

25.1.2. Системы врожденного и приобретенного иммунитета работают совместно

Как было упомянуто ранее, лимфоциты обычно реагируют на чужеродные антигены только в том случае, если сначала активируется **система врожденного иммунитета**. Как мы говорили ранее в главе 24, быстрые реакции врожденного иммунитета на инфекцию зависят в значительной степени от **паттерн-распознающих рецепторов**, создаваемых клетками системы врожденного иммунитета. Эти рецепторы опознают присущие микроорганизмам молекулы, не свойственные организму хозяина и называемые *иммуностимуляторами микробного происхождения*. Поскольку чаще всего они встречаются в виде повторяющихся структур, их называют также *патоген-ассоциированными молекулярными паттернами* (*pathogen-associated molecular patterns, PAMP*). К PAMP относят повторяющиеся элементы в молекулярной структуре нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов и белков микроорганизма.

Одни паттерн-распознающие рецепторы находятся на поверхности профессиональных фагоцитирующих клеток (фагоцитов) типа макрофагов и нейтрофилов, где опосредуют захват патогенов с последующей доставкой к лизосомам для

разрушения. Другие секретируются и связываются с поверхностью патогенов, что служит меткой для разрушения патогенов — или фагоцитами, или системой белков крови, вкпе называемых *системой комплемента* (о которой мы говорили в главе 24). Третьи, представленные уже знакомыми нам по главе 24 *Toll-подобными рецепторами* (*Toll-like receptors, TLR*), активируют внутриклеточные сигнальные пути, что приводит к секреции внеклеточных сигнальных молекул, стимулирующих развитие воспаления и реакций приобретенного иммунитета.

В системе врожденного иммунитета позвоночных клетки, реагирующие на РАР и наиболее эффективно активирующие реакции приобретенного иммунитета, представлены **дендритными клетками**. Они присутствуют в большинстве тканей и на высоком уровне экспрессируют TLR и другие паттерн-распознающие рецепторы; их функция заключается в представлении микробных антигенов Т-клеткам в периферических лимфоидных органах. В большинстве случаев они опознают и поглощают вторгшихся микробов, продукты их жизнедеятельности или фрагменты зараженных клеток непосредственно в очаге заражения и затем мигрируют со своей добычей в близлежащий лимфатический узел; в иных случаях они собирают микробов или продукты их жизнедеятельности непосредственно в периферическом лимфоидном органе, например, в селезенке. В любом случае, РАР микробного происхождения активируют дендритные клетки, так что они, в свою очередь, обретают способность непосредственно активировать Т-клетки в периферических лимфоидных органах, чтобы те отреагировали на микробные антигены, представленные на поверхности дендритной клетки. В активированном состоянии некоторые из Т-клеток мигрируют к очагу инфекции, где помогают уничтожать микробов (**рис. 25.5**). Другие активированные Т-клетки остаются в лимфоидном органе и помогают поддерживать дендритные клетки в активированном состоянии, активировать другие Т-клетки и стимулировать выработку В-клетками антител к микробным антигенам.

Таким образом, реакции врожденного иммунитета запускаются главным образом в очагах заражения (или ранения), тогда как реакции приобретенного иммунитета запускаются главным образом в периферических лимфоидных органах, таких как лимфатические узлы и селезенка. Реакции обоих типов работают рука об руку и совместно уничтожают вторгшиеся патогены и чужеродные макромолекулы.

25.1.3. В-лимфоциты созревают в костном мозге; Т-лимфоциты созревают в тимусе

Т-клетки и В-клетки получили свои имена по названиям органов, в которых они созревают. Т-клетки созревают в тимусе (*thymus*), а В-клетки (у млекопитающих) созревают в костном мозге (*bone marrow*) у взрослого или в печени у плода.

И Т- и В-клетки развиваются из одних и тех же *общих лимфоидных предшественников*. Сами же общие лимфоидные предшественники происходят от мультипотентных *кроветворных стволовых клеток*, которые дают начало всем клеткам крови, включая эритроциты, лейкоциты и тромбоциты. Такие стволовые клетки (обсуждалось в главе 23) находятся преимущественно в *кроветворных* тканях: у плода это, главным образом, печень, а у взрослого — костный мозг.

Т-клетки развиваются в тимусе из общих лимфоидных предшественников, которые мигрируют туда по кровотоку из кроветворных тканей. У большинства млекопитающих, включая человека и мышь, В-клетки развиваются из общих

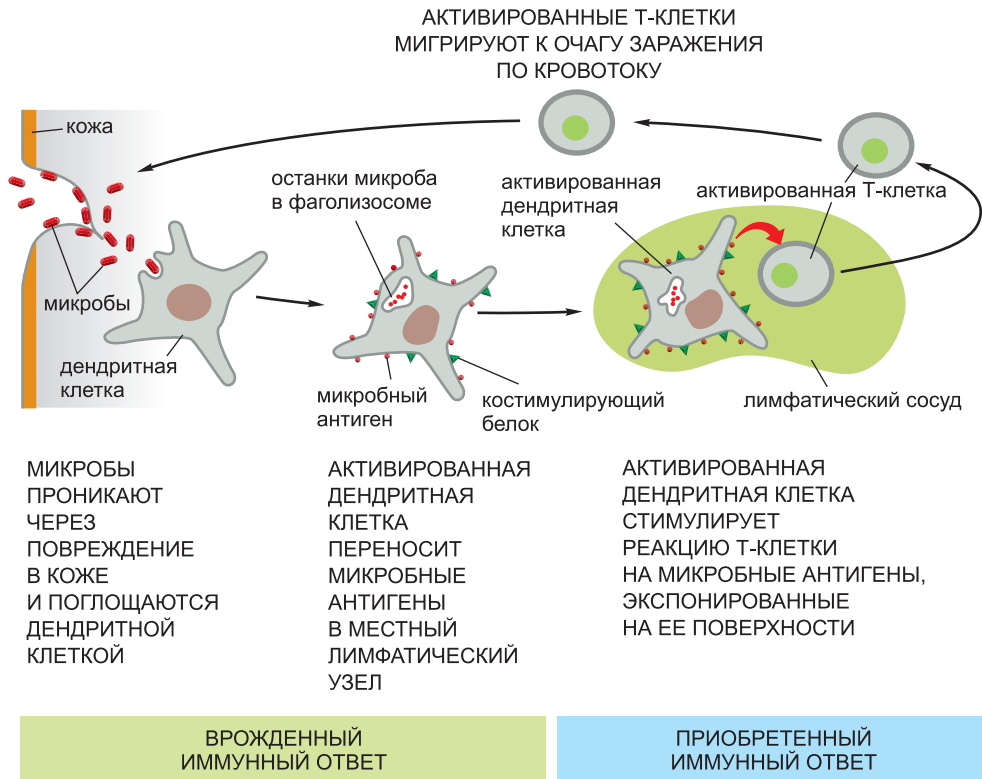


Рис. 25.5. Роль системы врожденного иммунитета в активации системы приобретенного иммунитета. Дендритные клетки заглатывают вторгшийся микроорганизм или продукты его жизнедеятельности в очаге заражения. Патерны патогенности микробного происхождения активируют экспрессию на поверхности дендритных клеток *костимулирующих белков* и миграцию дендритных клеток по лимфатическим сосудам к близлежащему лимфатическому узлу. Оказавшись в лимфатическом узле, активированные дендритные клетки активируют небольшую долю Т-клеток, экспрессирующих рецептор к микробным антигенам, представленным на поверхности дендритных клеток. Такие Т-клетки делятся, после чего некоторые из них мигрируют к очагу заражения, где помогают обезвредить микроорганизм — или содействуя активации макрофагов, или убивая зараженные клетки (не показано).

лимфоидных предшественников непосредственно в самих кроветворных тканях (рис. 25.6). Так как тимус и кроветворные ткани служат местом развития лимфоцитов из клеток-предшественниц, их принято считать **центральными (первичными) лимфоидными органами** (см. рис. 25.3).

Как мы увидим чуть позже, большинство лимфоцитов умирает в центральных лимфатических органах вскоре после своего созревания, так и не исполнив свой долг. Другие, однако, созревают и мигрируют по крови в **периферические лимфоидные органы** — главным образом, в лимфатические узлы, селезенку и связанные с эпителием лимфатические ткани желудочно-кишечного тракта, дыхательных путей и кожи (см. рис. 25.3). Именно в этих периферических лимфоидных органах Т- и В-клетки активируются чужеродными антигенами (см. рис. 25.6).

Морфологические отличия Т- и В-клеток друг от друга начинают проявляться только после их активации антигеном. Покоящиеся Т- и В-клетки весьма схожи

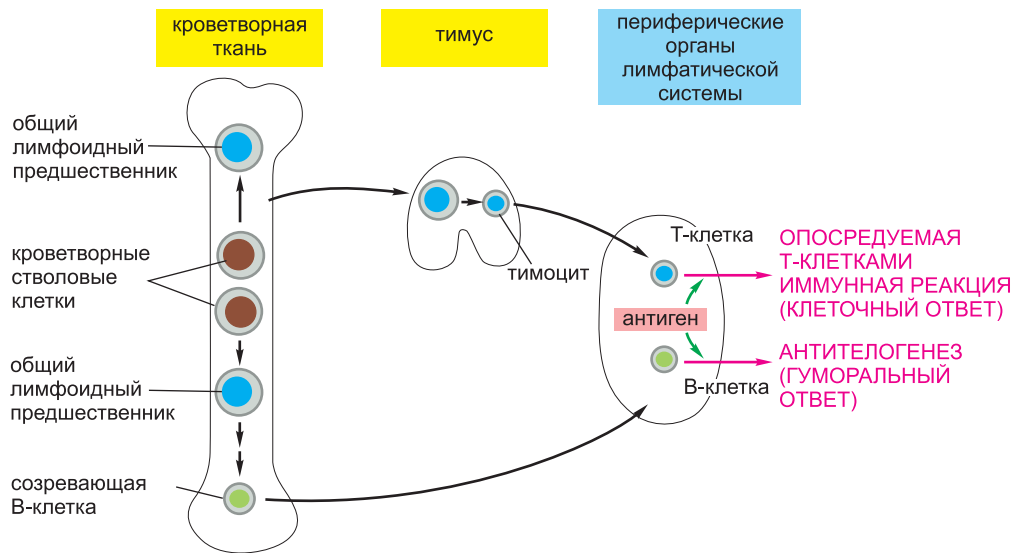


Рис. 25.6. Созревание Т- и В-клеток. Центральные лимфоидные органы, в которых из общих лимфоидных предшественников развиваются лимфоциты, выделены *желтым фоном*. Общие лимфоидные предшественники развиваются из мультипотентных кроветворных стволовых клеток костного мозга. Одна группа общих лимфоидных предшественников тут же в костном мозге дифференцируется в незрелые В-клетки, в то время как другая группа мигрирует (по кровотоку) в тимус, где дифференцируется в тимоциты (созревающие Т-клетки). Т-клетки и В-клетки активируются чужеродными антигенами преимущественно в периферических лимфоидных органах, таких как лимфатические узлы и селезенка.

на вид, даже если смотреть в электронный микроскоп. И те и другие малы (лишь незначительно крупнее эритроцитов) и содержат мало цитоплазмы (**рис. 25.7, а**). После активации тем или иным антигеном и те, и другие, разрастаются и превращаются в *эффекторные клетки*. Эффекторные В-клетки вырабатывают антитела. В своей наиболее зрелой форме, то есть в облике *плазматических клеток*, они заполнены обширной гранулярной эндоплазматической сетью, которая усердно синтезирует антитела (**рис. 25.7, б**). В отличие от них, эффекторные Т-клетки (**рис. 25.7, в**) содержат очень маленький эндоплазматический ретикулум и не вырабатывают антител; вместо этого, они выделяют целый ряд сигнальных белков, называемых **цитокинами**, которые служат локальными медиаторами.

Выделяют три основных класса Т-клеток: цитотоксические Т-клетки (Т-киллеры), Т-хелперы и регуляторные Т-клетки (которые ранее называли Т-супрессорами). *Цитотоксические Т-клетки* непосредственно убивают зараженные клетки хозяина. *Т-хелперы* помогают активировать макрофаги, дендритные клетки, В-клетки и цитотоксические Т-клетки, секретируя разнообразные цитокины и презентирова на своей поверхности разнообразные костимуляторные белки. *Регуляторные Т-клетки*, как полагают, используют схожие стратегии, чтобы ингибировать функции Т-хелперов, цитотоксических Т-клеток и дендритных клеток. Таким образом, если В-клетки могут действовать дистанционно, вырабатывая антитела, которые повсеместно разносятся кровотоком, то Т-клетки могут мигрировать к отдаленным участкам, но, появившись там, оказывают лишь местное воздействие на соседние клетки.

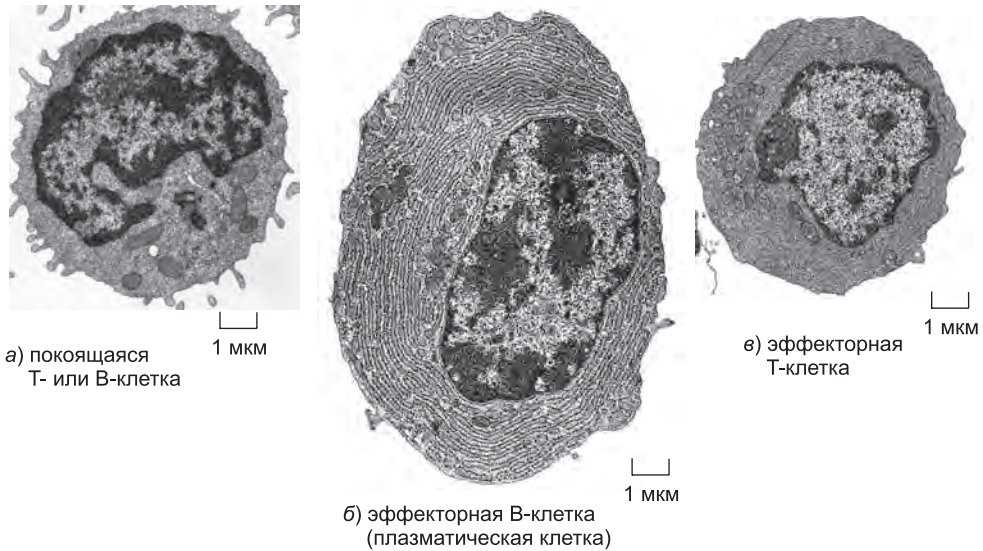


Рис. 25.7. Электронные микрофотографии покоящихся и эффекторных лимфоцитов. а) Этот покоящийся лимфоцит может быть Т-клеткой, или В-клеткой, поскольку эти клетки трудно различить по морфологическим признакам, пока они не будут активированы и не станут эффекторными клетками. б) Эффекторная В-клетка (плазматическая клетка). Она заполнена разросшейся гранулярной эндоплазматической сетью, наполненной молекулами антител. в) Эффекторная Т-клетка, которая имеет относительно малую гранулярную эндоплазматическую сеть, заполнена свободными рибосомами. Все три клетки показаны при одинаковом увеличении. (Снимок а любезно предоставлен Dorothy Zucker-Franklin; фото б любезно предоставлено Carlo Grossi; изображения а и б заимствованы из D. Zucker-Franklin et al., *Atlas of Blood Cells: Function and Pathology*, 2nd ed. Milan, Italy: Edi. Ermes, 1988; снимок в любезно предоставлен Stefanello de Petris.)

25.1.4. Система приобретенного иммунитета работает по методу клональной селекции

Самая удивительная особенность системы приобретенного иммунитета — это ее способность реагировать на миллионы различных чужеродных антигенов крайне специфичным образом. К примеру, В-клетки человека могут синтезировать более 10^{12} различных антител, которые специфично реагируют на тот антиген, который вызвал их производство. Так как же В-клетки порождают такое разнообразие специфичных антител? Ответ начал прорисовываться в 1950-х гг. при формулировании так называемой **клонально-селекционной теории**. Согласно этой теории, животное сначала беспорядочно производит широкое многообразие лимфоцитов и затем выбирает для активации те лимфоциты, которые способны реагировать на чужеродные антигены, появившиеся в организме животного. По мере того, как лимфоцит созревает в центральном лимфоидном органе, он становится готовым реагировать на конкретный антиген до непосредственного контакта с этим антигеном. Он выражает эту готовность в форме белков-рецепторов на клеточной поверхности, которые специфично связывают нужный антиген. Когда лимфоцит встречается со своим антигеном в периферическом лимфоидном органе, связывание антигена с рецепторами приводит к активации лимфоцита, он начинает делиться, тем самым порождая множество новых клеток с тем же рецептором, — этот процесс получил

название *клональной экспансии* (поскольку клетки, происходящие от одной клетки-предшественницы, принято называть *клоном*). Кроме того, встреча с антигеном побуждает клетки дифференцироваться в *эффекторные клетки*. Таким образом, антиген избирательно стимулирует те клетки, которые экспрессируют комплементарные ему антигенспецифические рецепторы и, следовательно, уже направленные на реагирование с ним (рис. 25.8). Именно такая организация обуславливает антигенную специфичность реакций приобретенного иммунитета.

Основные принципы теории клональной селекции подтверждаются многочисленными данными. Но каким образом система приобретенного иммунитета может производить лимфоциты, которые совместными усилиями демонстрируют столь огромное разнообразие рецепторов, в том числе и таких, которые опознают синтетические молекулы, никогда не встречающиеся в природе? Позже мы увидим, что у человека антигенспецифические рецепторы и Т-, и В-клеток кодируются генами, образованными из ряда генных сегментов в ходе генетической рекомбинации особой формы, происходящей на ранней стадии развития лимфоцита, еще до того, как он встретит свой антиген. Благодаря такому процессу порождается огромное многообразие рецепторов, а следовательно, и несущих их лимфоцитов,

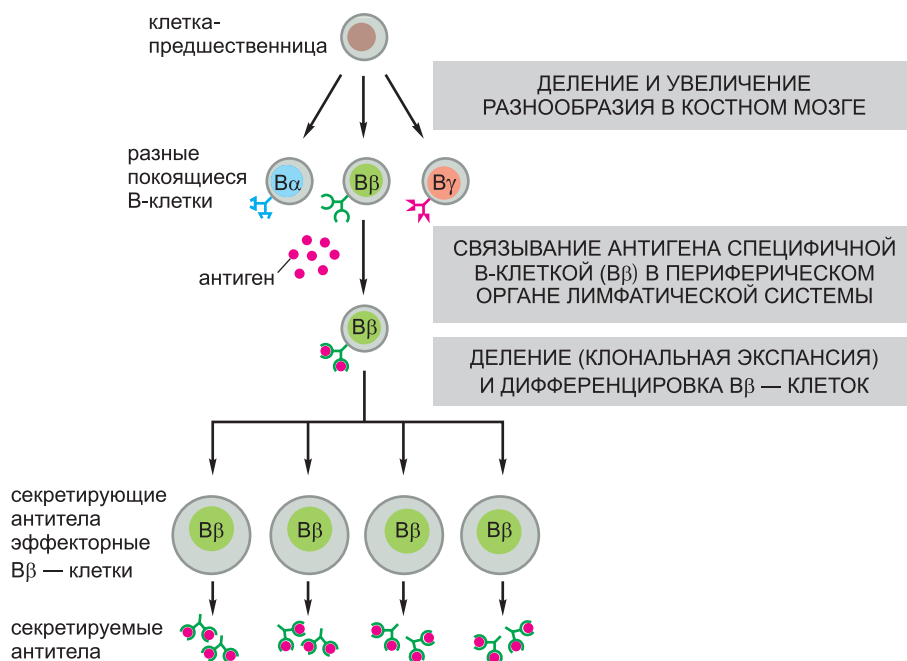


Рис. 25.8. Теория клональной селекции. Антиген активирует только те лимфоциты, которые уже направлены на реагирование с ним. Клетка, направленная на реагирование со специфичным антигеном, экспонирует на своей поверхности рецепторы, которые специфично опознают этот антиген. Иммунная система человека, как думают, состоит из многих миллионов различных клонов лимфоцитов, где клетки одного клона экспрессируют один и тот же уникальный для этого клона рецептор. До первого столкновения с антигеном клон обычно содержит только одну клетку или же небольшое их число. Всякий отдельно взятый антиген может активировать сотни различных клонов. Хотя на рисунке показаны только В-клетки, Т-клетки работают аналогичным образом. Обратите внимание, что рецепторами на В-клетках служат молекулы антитела и что антитела на В-клетках, помеченных на этой схеме «Вβ», связываются с тем же антигеном, что и антитела, вырабатываемые эффекторными «Вβ»-клетками.

что позволяет иммунной системе реагировать на практически неограниченное разнообразие антигенов.

25.1.5. Большинство антигенов активирует много различных клонов лимфоцитов

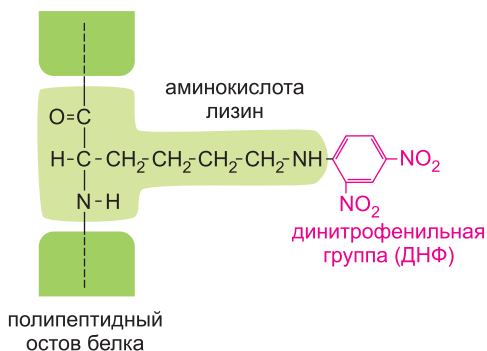
В качестве антигена может выступить большинство крупных молекул, включая фактически все белки и многие полисахариды. Те части антигена, которые связываются с участком связывания антигена, находясь он на молекуле антитела или на рецепторе лимфоцитов, называют **антигенными детерминантами** (или *эпитопами*). Большинство антигенов имеет множество антигенных детерминант, которые могут стимулировать выработку антител, специфические реакции, опосредуемые Т-клетками, или и то и другое одновременно. Одни из детерминант отдельно взятого антигена вызывают более сильную реакцию, чем другие, так что реакция на них может доминировать в суммарной иммунной реакции. Такие детерминанты называют *иммунодоминантами*.

Всякая антигенная детерминанта в большинстве случаев активирует много клонов лимфоцитов, каждый из которых несет сайт связывания с антигеном с присущим ему характерным сродством к этой детерминанте. Даже на относительно простую структуру наподобие *динитрофенильной (ДНФ)* группы на **рис. 25.9** можно «посмотреть» многими способами. Будучи соединена с белком, как показано на рисунке, она обычно стимулирует производство сотен разновидностей антител анти-ДНФ, при этом каждая разновидность вырабатывается своим клоном В-клеток. Такие реакции называют *поликлональными*. В *олигоклональных* реакциях активируется небольшое число клонов, а в *моноклональных* реакциях активируется только один клон В- или Т-клеток. Моноклональные антитела широко используются в качестве инструментария биологии и медицины, но они должны быть произведены особым способом (см. рис. 8.8), ибо реакции на большинство антигенов являются поликлональными.

25.1.6. Иммунологическая память существует благодаря клональной экспансии и дифференцировке лимфоцитов

Система приобретенного иммунитета, как и нервная система, может запоминать предшествующий опыт. Именно поэтому мы развиваем пожизненный иммунитет ко многим распространенным инфекционным болезням после первых встреч с соответствующими патогенами, и именно поэтому вакцинация дает результат. Подобное явление можно продемонстрировать на экспериментальных животных. Если некоторое животное однократно иммунизируют антигеном А, иммунный ответ (гуморальный, клеточный или оба одновременно) быстро и экспоненциально возрастает, а затем, бо-

Рис. 25.9. Динитрофенильная (ДНФ) группа. Хотя ДНФ-группа слишком мала, чтобы самостоятельно вызвать иммунную реакцию, за счет ковалентного соединения с боковой цепью лизина в последовательности белка, как показано на рисунке, ДНФ стимулирует выработку сотен различных разновидностей антител, каждое из которых специфично связывается с ней.



лее постепенно, спадает. Такое протекание характерно для **первичной иммунной реакции**, имеющей место при первом знакомстве животного с каким-либо антигеном. Если через несколько недель, месяцев или даже лет животное снова иммунизируют этим же антигеном А, то оно обычно развивает **вторичную иммунную реакцию**, которая отличается от первичной реакции: лаг-период короче, а сама реакция более мощная и более эффективная. Эти отличия указывают на то, что животное «вспомнило» свое первое взаимодействие с антигеном А. Если же вместо второй иммунизации антигеном А этому же животному дают иной антиген (например, антиген В), то наблюдаемая реакция типична для первичной, а не вторичной иммунной реакции. Таким образом, вторичная реакция на антиген А отражает специфическую **иммунологическую память** об этом антигене (рис. 25.10).

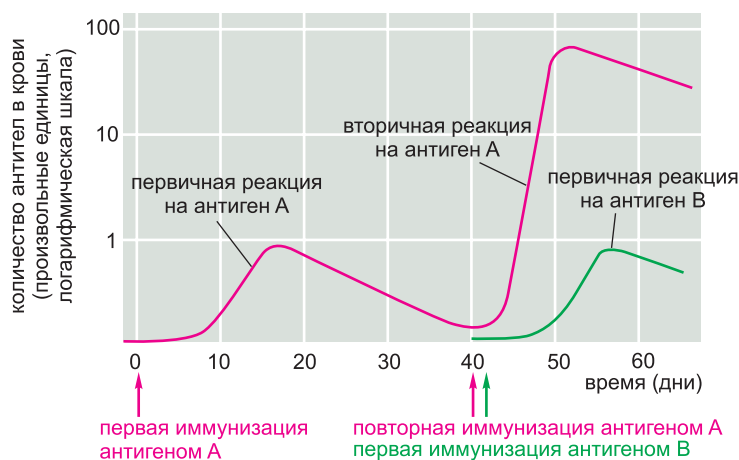
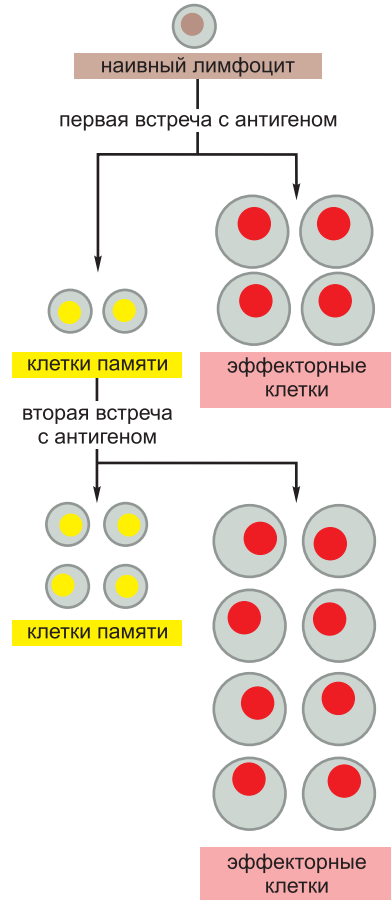


Рис. 25.10. Первичная и вторичная иммунные реакции антителогенеза (первичный и вторичный гуморальный ответ). Вторичная реакция, вызванная повторным воздействием антигена А, быстрее и мощнее, чем первичная реакция, и специфична к антигену А; это указывает на то, что система приобретенного иммунитета специфично запомнила свою предыдущую встречу с антигеном А. Подобная иммунологическая память наблюдается и в случае реакций, опосредуемых Т-клетками. Как мы расскажем далее, в ходе вторичной реакции вырабатываются антитела иного типа, чем вырабатывавшиеся во время первичной реакции, и эти антитела связывают свой антиген намного крепче.

Теория клональной селекции дает концептуальную основу для понимания клеточных механизмов иммунологической памяти. У взрослого животного периферические органы лимфатической системы содержат смесь лимфоцитов, находящихся на по крайней мере трех стадиях созревания: *наивные лимфоциты*, *эффекторныe клетки* и *клетки памяти*. Когда **наивные лимфоциты** впервые сталкиваются со своим антигеном, этот антиген стимулирует деление некоторых из них и дифференцировку в **эффекторныe клетки**, которые и осуществляют иммунную реакцию (эффекторные В-клетки выделяют антитела, в то время как эффекторные Т-клетки или убивают зараженные клетки, или регулируют работу других клеток). Некоторые из простимулированных антигеном наивных лимфоцитов пролиферируют и дифференцируются в **клетки памяти**, которые сами по себе не участвуют в иммунных реакциях, но при последующем столкновении с тем же антигеном они превращаются в эффекторные клетки легче и быстрее, чем наивные лимфоциты. Когда клетки памяти встречают

Рис. 25.11. Модель клеточной основы иммунологической памяти. После стимуляции специфическим антигеном наивные лимфоциты делятся и дифференцируются. Большинство из них становится эффекторными клетками, которые выполняют свою функцию и затем обычно умирают, остальные становятся клетками памяти. Во время последующих встреч с тем же антигеном клетки памяти реагируют с большей готовностью, быстрее и эффективнее, чем это делали наивные лимфоциты: они делятся и дают начало эффекторным клеткам и большему числу клеток памяти. Т-клетки памяти могут развиваться также и из эффекторных клеток (не показано).



свой антиген (как и наивные лимфоциты), они дают начало или эффекторным клеткам, или еще большему числу клеток памяти (рис. 25.11).

Таким образом, первичная реакция создает иммунологическую память за счет клональной экспансии, посредством которой деление стимулированных антигеном наивных лимфоцитов порождает множество клеток памяти, а также за счет того, что такие клетки памяти способны реагировать на тот же антиген более чувствительно, быстро и эффективно, чем наивные лимфоциты. Более того, в отличие от большинства эффекторных клеток, которые умирают в течение дней или недель, клетки памяти могут существовать на протяжении всей жизни животного, причем даже в отсутствие своего специфического антигена, и, таким образом, обеспечивают пожизненную иммунологическую память.

Как мы увидим чуть позже, В-клетки памяти вырабатывают антитела других классов и с намного более высокой аффинностью к антигену, чем у выделяемых наивными В-клетками. Это главная причина того, что вторичный гуморальный ответ уничтожает патогены намного эффективнее, чем первичный.

Хотя большинство эффекторных Т- и В-клеток умирает после того, как иммунная реакция стихнет, некоторые выживают в виде эффекторных же клеток и помогают обеспечивать долгосрочную защиту против патогена. Например, малая доля плазматических клеток, порожденных в ходе первичной реакции, опосредуемой В-клетками, может в течение многих месяцев жить в костном мозге и продолжать выделять свои специфические антитела в кровотоке.

25.1.7. Иммунологическая толерантность гарантирует неприкосновенность «своих» антигенов

Как было сказано в главе 24, клетки системы врожденного иммунитета отличают патогены от нормальных молекул хозяина с помощью паттерн-распознающих рецепторов. Система приобретенного иммунитета имеет намного более трудную опознавательную задачу: она должна быть способна специфично реагировать на почти неограниченное число чужеродных макромолекул и в то же время не раз-

вывать реакции на большое число молекул, синтезируемых организмом самого хозяина. Как такое возможно? Помогает то, что «свои» молекулы не вызывают реакции врожденного иммунитета, которые необходимы для активации системы приобретенного иммунитета. Но даже тогда, когда инфекция или повреждение ткани вызывают реакции врожденного иммунитета, ни одна из подавляющего большинства «своих» молекул не вызывает реакцию приобретенного иммунитета. Так почему же не вызывает?

Во-первых, система приобретенного иммунитета «научилась» не реагировать на «свои» антигены. Одним из источников данных, говорящих о таком процессе «обучения», послужили эксперименты по трансплантации. Когда ткани одной особи пересаживают другой особи (и эти особи не генетически идентичные близнецы), иммунная система реципиента обычно опознает клетки донора как чужеродные и уничтожает их. (По причинам, которые мы обсудим позже, чужеродные антигены на поверхности клеток донора настолько мощны, что могут стимулировать реакции приобретенного иммунитета в отсутствие инфекции, ранения или адьюванта.) Однако если клетки из одной линии мышей ввести не взрослой, а новорожденной мышке из другой линии, то некоторые из этих клеток будут жить на протяжении большей части жизни животного-реципиента, и после такой процедуры реципиент будет принимать трансплантаты от первоначального донора, хотя и отвергать трансплантаты от «третьих лиц». Очевидно, что при особых обстоятельствах «чужие» антигены могут побудить иммунную систему стать специфично неотзывчивой к ним. Такая антигенспецифическая неотзывчивость к чужеродным антигенам известна как *приобретенная иммунологическая толерантность* (рис. 25.12).

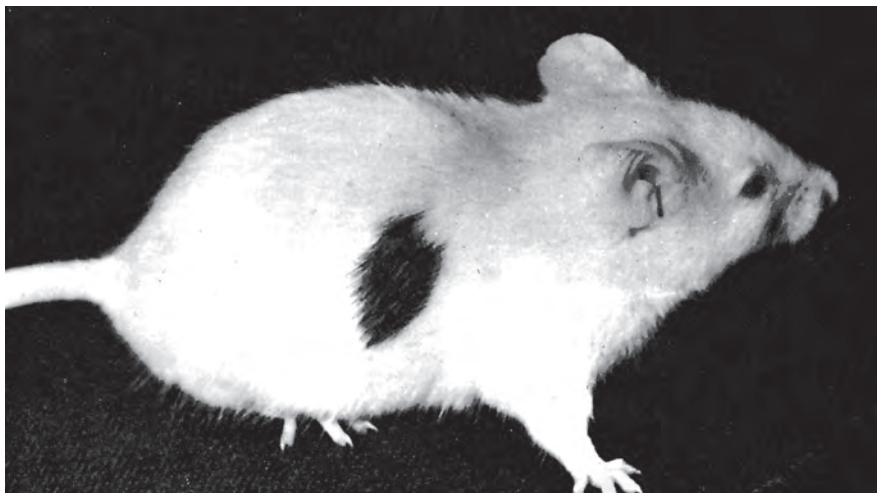


Рис. 25.12. Приобретенная иммунологическая толерантность. Коричневый лоскут кожи, наблюдаемый на рисунке, был пересажен от взрослой коричневой мыши ко взрослой белой мышке. Он прожил в течение многих недель только потому, что при рождении белая мышка получила инъекцию клеток костного мозга от коричневой мыши и стала иммунологически толерантной к ним. Некоторые из клеток костного мозга (и их потомство) от коричневой мыши сохраняются в организме взрослой белой мыши и продолжают вызывать толерантность у новообразуемых лимфоцитов, которые в противном случае реагировали бы против коричневой кожи. (С любезного дозволения Leslie Brent эта фотография заимствована из I. Roitt, *Essential Immunology*, 6th ed. Oxford, UK: Blackwell Scientific, 1988.)

Неотзывчивость системы приобретенного иммунитета всякого животного на свои собственные макромолекулы (*естественная иммунологическая толерантность*, или **ауто толерантность**) приобретается аналогичным образом. Например, нормальные мыши не могут развивать иммунную реакцию против одного из своих собственных белковых компонентов системы комплемента, называемого C5 (обсуждали в главе 24). Однако мутантные мыши, у которых нет гена, кодирующего компонент C5, (но во всех остальных отношениях генетически идентичные нормальным мышам) могут развить сильную иммунную реакцию на этот белок крови, будучи им иммунизированы. Точно так же, люди, у которых отсутствует нормальный ген, кодирующий белок Factor VIII, участвующий в свертывании крови, (из-за чего такие люди страдают сильными кровотечениями), вырабатывают к этому белку антитела, когда его вводят им, чтобы сдерживать кровотечение.

Естественная иммунологическая толерантность к определенной «своей» молекуле сохраняется только до тех пор, пока эта молекула пребывает в организме. Если такую «свою» молекулу (скажем, компонент C5) экспериментально удалить из организма взрослой мыши, то спустя несколько недель или месяцев животное приобретает способность реагировать на нее. Таким образом, иммунная система генетически способна реагировать на «свои» молекулы, но «научается» не делать этого.

Приобретение ауто толерантности зависит от ряда различных механизмов:

1. В ходе *редактирования рецептора* развивающиеся лимфоциты, способные опознавать «собственные» молекулы (*аутореактивные лимфоциты*), изменяют свои антигенраспознающие рецепторы так, что больше не опознают аутоантигены;
2. В ходе *клональной делеции* аутореактивные лимфоциты умирают апоптозом, когда связывают свой аутоантиген;
3. В ходе *клональной инактивации* (называемой также клональной анергией) аутореактивные лимфоциты становятся функционально инактивированными, когда сталкиваются со своим аутоантигеном;
4. В ходе *клональной супрессии* регуляторные Т-клетки подавляют активность аутореактивных лимфоцитов.

Некоторые из этих механизмов, а в особенности первые два: клональная делеция и редактирование рецептора, работают в центральных лимфоидных органах, когда новообразованные аутореактивные лимфоциты впервые сталкиваются со своими аутоантигенами. Эти механизмы отвечают в основном за процесс, называемый *центральной толерантностью*. Механизмы клональной инактивации и клональной супрессии, напротив, включаются главным образом тогда, когда лимфоциты сталкиваются со своими аутоантигенами в периферических лимфоидных органах. Эти механизмы отвечают за процесс, называемый *периферической толерантностью*. Однако известно, что механизмы клональной делеции и клональной инактивации работают и центрально, и периферически (**рис. 25.13**).

Почему связывание аутоантигена ведет к толерантности, а не к активации? Ответ на этот вопрос все еще до конца не известен. Как будет сказано чуть позже, для того чтобы активировать лимфоцит в периферическом лимфоидном органе, клетка должна сделать нечто большее, чем просто связать свой антиген: наряду с этим, она должна получить мембраносвязанные и секретируемые костимулирующие сигналы (секретируемые сигналы представляют собой различные цитокины). В случае В-лимфоцита сигналы обоих типов обеспечиваются Т-хелпером, а в случае

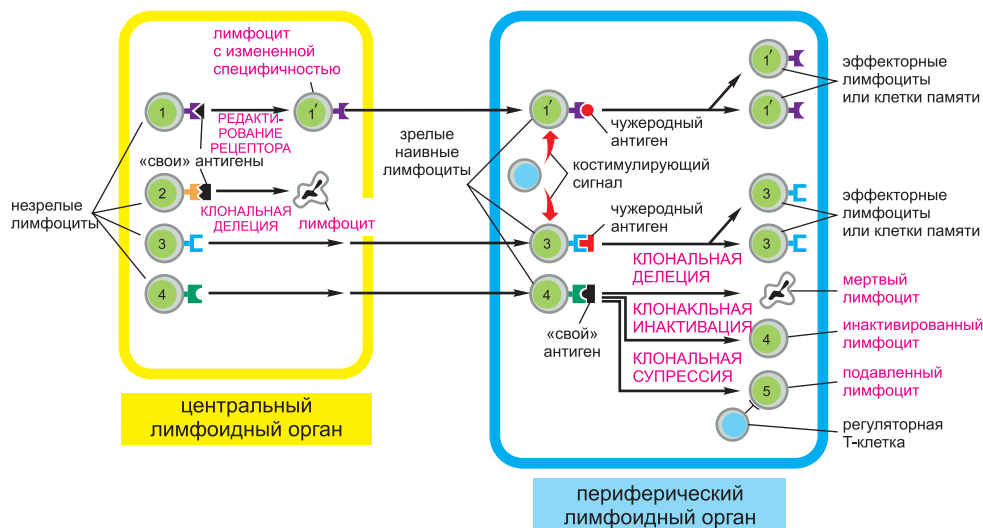


Рис. 25.13. Механизмы иммунологической толерантности к аутоантигенам. Когда аутореактивный незрелый лимфоцит связывает свой аутоантиген в центральном лимфоидном органе, где эти клетки были образованы, он может видоизменить свой рецептор к антигену так, что утратит свою аутореактивность (клетка 1). Этот процесс называют редактированием рецептора, и полагают, он происходит главным образом в развивающихся В-клетках. Также клетка может умереть апоптозом, и такой процесс называют клональной делецией (клетка 2). Поскольку толерантность этих двух форм (показаны слева) возникает в центральных лимфоидных органах, ее называют *центральной толерантностью*. Когда аутореактивный наивный лимфоцит избегает толерантности в центральном лимфоидном органе и связывает свой аутоантиген в периферическом лимфоидном органе (клетка 4), он, как правило, не активируется, потому что связывание обычно происходит в отсутствие надлежащих костимулирующих сигналов; вместо активации клетка может умереть апоптозом (зачастую после периода пролиферации), быть инактивирована или подавлена регуляторными Т-клетками (если этот аутореактивный лимфоцит представлен эффекторной Т-клеткой). Такие формы толерантности (показаны справа) называют *периферической толерантностью*.

Т-лимфоцита — активированной дендритной клеткой. Поскольку продукция таких сигналов обычно запускается при встрече с патогеном, аутореактивный лимфоцит обычно сталкивается со своим аутоантигеном в отсутствие таких сигналов. В данных условиях В-клетка, взаимодействующая со своим антигеном, или же Т-клетка, взаимодействующая со своим антигеном, находящимся на поверхности неактивированной дендритной клетки, не только будет не в состоянии активироваться, но, скорее всего, проявит толерантность, будучи или убита, или инактивирована, или активно подавлена регуляторной Т-клеткой (см. рис. 25.13). Как мы увидим позже, и приобретение Т-клеткой толерантности, и активация Т-клетки в периферических лимфоидных органах обычно происходят на поверхности дендритной клетки.

Иногда механизмы приобретения толерантности дают сбой, и тогда Т- или В-клетки (или и те и другие одновременно) начинают реагировать на антигены тканей самого организма. Примером такой **аутоиммунной болезни** служит *миастения гравис*. Страдающие от нее индивидуумы вырабатывают антитела к рецепторам ацетилхолина, расположенным на поверхности своих собственных клеток скелетных мышц. Эти антитела нарушают нормальное функционирование рецепторов, так что

у пациентов развивается слабость, и они могут умереть из-за потери способности дышать. Аналогичным образом при *детском диабете (1-го типа)* иммунные реакции против выделяющих инсулин клеток поджелудочной железы убивают эти клетки, что выливается в серьезную нехватку инсулина.

В большинстве случаев механизмы, повинные в нарушении толерантности к аутоантигенам при аутоиммунных заболеваниях, неизвестны. Хотя существует мнение, что запуску реакции против аутоантигенов и дальнейшему развитию аутоиммунитета у индивидуумов с дефектами в механизмах ауто толерантности может способствовать активация системы врожденного иммунитета в результате инфекции или повреждения ткани.

25.1.8. Лимфоциты постоянно циркулируют в периферических лимфоидных органах

Как правило, патогены проникают в организм через эпителиальную поверхность, обычно через кожу, кишечник или дыхательные пути. Для того чтобы вызвать приобретенный иммунный ответ, нужно перенести микробные антигены из таких точек проникновения в участок активации лимфоцитов, то есть в какой-нибудь периферический лимфоидный орган, скажем, в близлежащий лимфатический узел или селезенку (см. рис. 25.5). Маршрут и место назначения зависят от участка проникновения патогена. Те антигены, что проникают через кожу или дыхательные пути, переносятся по лимфатическим сосудам (см. рис. 25.3) к местным лимфатическим узлам; антигены, проникающие через кишечник, оказываются в ассоциированных с кишечником периферических лимфоидных органах типа Пейеровых бляшек; селезенка же отфильтровывает те антигены, что попадают в кровь. Как говорилось ранее, во многих случаях антиген переносится от участка заражения в периферический лимфоидный орган дендритными клетками, где они играют определяющую роль в активации Т-клеток (см. рис. 25.5).

Однако из всей популяции лимфоцитов лишь малая толика может опознать определенный микробный антиген в периферическом лимфоидном органе (по оценкам, где-то от 1-го на 10 000 до 1-го на 100 000 лимфоцитов каждого класса). Каким же образом столь малочисленные клетки находят антигенпрезентирующую клетку, демонстрирующую специфичный для них антиген? Ответ заключается в том, что лимфоциты непрерывно циркулируют от одного периферического лимфоидного органа к другому через лимфу и кровь. К примеру, в лимфатическом узле лимфоциты непрерывно покидают кровотоки, протискиваясь между специализированными эндотелиальными клетками, выстилающими мельчайшие вены, называемые *посткапиллярными венами*. После просачивания через узел они накапливаются в малых лимфатических сосудах, выходящих из узла и соединяющихся с другими лимфатическими сосудами, которые проходят через очередные лимфатические узлы вниз по лимфотоку (см. рис. 25.3). Проходя по все более и более крупным сосудам, лимфоциты в конечном счете попадают в главный лимфатический сосуд (*грудной лимфатический проток*), который выносит их обратно в кровь (рис. 25.14).

Непрерывная рециркуляция между кровью и лимфой заканчивается только в том случае, если лимфоцит будет активирован своим специфическим антигеном в периферическом лимфоидном органе. После этого лимфоцит остается в периферическом лимфоидном органе, где он делится и дифференцируется или в эффекторные клетки, или в клетки памяти. Большинство эффекторных Т-клеток покидают лимфатический орган через лимфу и мигрируют через кровь к участку

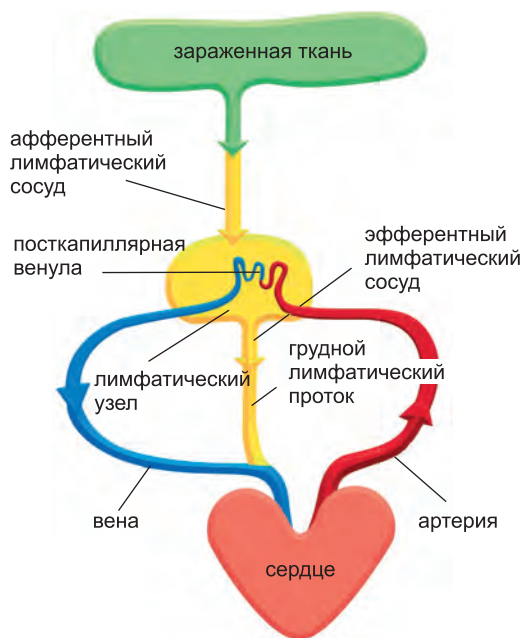


Рис. 25.14. Путь, который проходят лимфоциты в ходе их непрерывной циркуляции между лимфой и кровью. На рисунке представлена схема циркуляции лимфоцитов через лимфатический узел (*желтый*). Микробные антигены обычно переносятся в лимфатический узел дендритными клетками (не показаны), которые попадают в узел через афферентные лимфатические сосуды, исходящие из зараженной (*зеленой*) ткани. Т- и В-клетки, напротив, попадают в лимфатический узел через артерию и мигрируют из кровотока через посткапиллярные венулы. Если эти Т- и В-клетки не встречают свой антиген, то они покидают лимфатический узел через эфферентные лимфатические сосуды, которые в конечном счете впадают в грудной лимфатический проток. Грудной лимфатический проток впадает в большую вену, несущую кровь к сердцу, что завершает процесс циркуляции Т- и В-клеток. Типичный цикл циркуляции лимфоцитов длится около 12–24 часов.

заражения (см. рис. 25.5), тогда как малая их часть остается в лимфатическом органе и помогает активировать В-клетки или другие Т-клетки. Одни эффекторные В-клетки (плазматические клетки) остаются в периферическом лимфоидном органе и выделяют антитела в кровь в течение нескольких дней, пока не умрут; другие мигрируют в костный мозг, где выделяют антитела в кровь в течение месяцев или даже лет. Возникшие в ходе иммунного ответа Т- и В-клетки памяти вливаются в общий круговорот лимфоцитов.

Рециркуляция лимфоцита зависит от специфических взаимодействий между клеточной поверхностью лимфоцита и поверхностью эндотелиальных клеток, выстилающих кровеносные сосуды в периферических лимфоидных органах. В контакт со специализированными эндотелиальными клетками, выстилающими посткапиллярные венулы лимфатических узлов, вступают многие из типов клетки крови, но только лимфоциты прикрепляются и затем мигрируют из кровотока в узлы. Сначала лимфоциты прилепляются к эндотелиальным клеткам за счет «хоуминг»-рецепторов, которые связываются со специфическими лигандами (часто называемыми *контррецепторами*) на поверхности эндотелиальных клеток. Перемещение лимфоцита в лимфатические узлы зависит от «хоуминг»-рецептора, белка *L-селектина* — члена семейства селектинов из числа лектинов клеточной поверхности. Этот белок связывается с определенными сахарными группами на контррецепторе (который экспрессируется исключительно на поверхности специализированных эндотелиальных клеток, выстилающих посткапиллярные венулы в лимфатических узлах), за счет чего лимфоциты слабо прилепляются к эндотелиальным клеткам и медленно катятся по их поверхности. Качение продолжается до тех пор, пока выделяемые эндотелиальными клетками белки-хемоаттрактанты (называемые *хемотинами*; см. ниже) не введут в игру другую, намного более действенную систему адгезии. Это сильное прилипание опосредствуется членами семейства *интегринов* из числа молекул клеточной адгезии, которые активируются на поверхности

лимфоцита. Тогда лимфоциты перестают катиться и выползают из кровеносного сосуда в лимфатический узел (рис. 25.15). И селектины и интегрины уже были рассмотрены нами в главе 19.

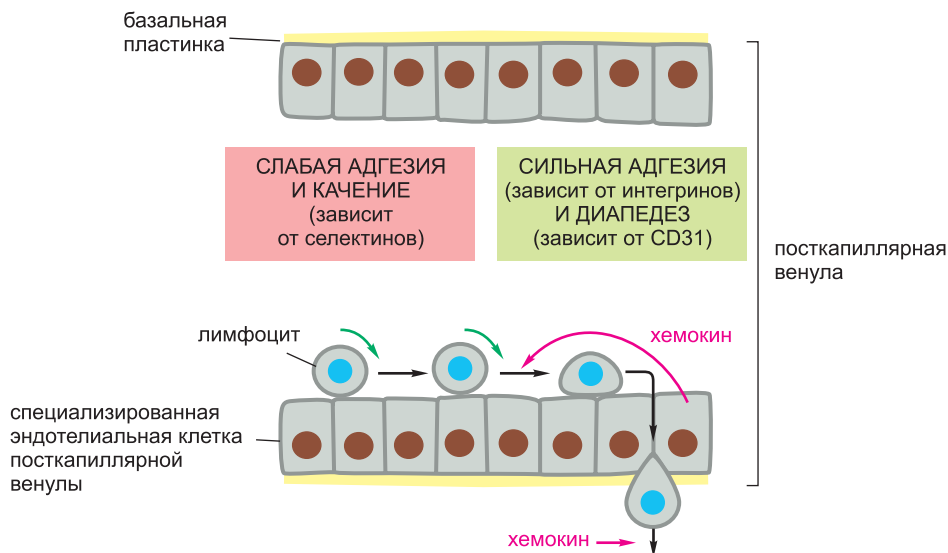


Рис. 25.15. Миграция лимфоцита из кровотока в лимфатический узел. Циркулирующий лимфоцит слабо взаимодействует с поверхностью специализированных эндотелиальных клеток, выстилающих посткапиллярную венулу в лимфатическом узле. Это начальное прилипание опосредствуется L-селектином, находящимся на поверхности лимфоцита. Прилипание довольно слабое для того, чтобы лимфоцит перекачивался по поверхности эндотелиальных клеток, подталкиваемый вперед током крови. Будучи простимулирован хемокинами, выделяемыми эндотелиальными клетками (дугообразная красная стрелка), лимфоцит быстро активирует систему более сильной адгезии, опосредствуемой интегрином. Это сильное прилипание позволяет клетке прекратить катиться. Остановившись, лимфоцит с помощью Ig-подобного белка клеточной адгезии (CD31) связывается с участками соединения смежных эндотелиальных клеток и мигрирует из венулы. Белок CD31 располагается и на поверхности лимфоцита и на эндотелиальных клетках в местах плотного соединения клеток. Последующее перемещение лимфоцитов в лимфатический узел зависит от хемокинов, вырабатываемых в этом узле (прямая красная стрелка). Перемещение других лейкоцитов из кровотока в участки заражения происходит аналогичным образом.

Хемокины — разновидность цитокинов. Это маленькие секретируемые положительно заряженные белки, которые играют ключевую роль в регуляции перемещений клеток различных типов, включая и лейкоциты. Все они родственны в структурном отношении и связываются с поверхностью эндотелиальных клеток, равно как и с отрицательно заряженными протеогликанами внеклеточного матрикса в органах. Связываясь с сопряженными с G-белком рецепторами хемокинов (обсуждались в главе 15) на поверхности определенных клеток крови, хемокины привлекают эти клетки из кровотока в орган, направляют их к определенным местам внутри этого органа и затем помогают остановить миграцию. (К сожалению, вирус СПИДа, ВИЧ, тоже связывается с некоторыми рецепторами хемокинов и с корецептором CD4 (о котором мы еще поговорим позже), а потому способен заражать макрофаги и Т-лимфоциты.) Вначале Т- и В-клетки попадают в одну и ту же область лимфатического узла, но потом различные хемокины направляют их

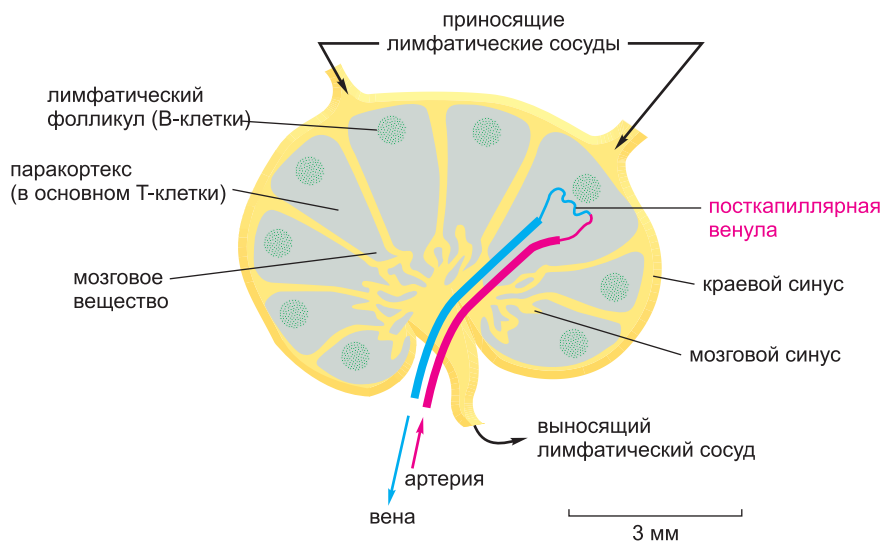


Рис. 25.16. Упрощенная схема лимфатического узла человека. В-клетки преимущественно группируются в структурах, называемых фолликулами лимфатического узла, тогда как Т-клетки пребывают главным образом в паракортикальной области. Хемокины привлекают лимфоциты обоих типов из крови в лимфатический узел через посткапиллярные вены (см. рис. 25.15). Затем привлекаемые различными хемокинами Т- и В-клетки мигрируют в соответствующие области лимфатического узла. Если они не встречают специфичный для себя антиген, то и Т-клетки, и В-клетки перемещаются в медуллярные синусы и покидают узел через эфферентный лимфатический сосуд. Этот сосуд в конечном счете впадает в кровоток, позволяя лимфоцитам начать следующий круг циркуляции через периферический лимфоидный орган (см. рис. 25.14).

Если же Т- и В-клетки встречают специфичный им антиген, то они остаются в узле и, будучи активированы, превращаются в эффекторные клетки или в клетки памяти; реагирующие на один и тот же патоген Т- и В-клетки могут взаимодействовать между собой в фолликулах лимфатического узла и возле них.

в разные области узла: Т-клетки — в паракортикальную область, а В-клетки — в фолликулы лимфатического узла (рис. 25.16).

Если Т- и В-клетки не сталкиваются со своим антигеном, то вскоре они покидают лимфатический узел через эфферентные лимфатические сосуды. Если же они встречают свой антиген, то это стимулирует их к экспонированию на своей поверхности рецепторов адгезии, с помощью которых клетки задерживаются в узле; такие клетки накапливаются Т-клеточной и В-клеточной областями, где редкие специфичные Т- и В-клетки могут взаимодействовать, что ведет к их пролиферации и дифференцировке либо в эффекторные клетки, либо в клетки памяти. Многие эффекторные клетки покидают узел, экспрессируя новые рецепторы хемокинов, которые помогают им перемещаться к новым целям: Т-клеткам — к участкам заражения, а В-клеткам — в костный мозг.

Заключение

Реакции врожденного иммунитета запускаются в участках заражения патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (pathogen-associated molecular patterns, PAMP), которые опознаются паттерн-распознающими

рецепторами, продуцируемыми клетками системы врожденного иммунитета. Кроме непосредственной борьбы с инфекцией, реакции врожденного иммунитета помогают активировать реакции приобретенного иммунитета в периферических лимфоидных органах. В отличие от реакций врожденного иммунитета, реакции приобретенного иммунитета обладают иммунологической памятью и таким образом обеспечивают направленную и длительную защиту против определенного патогена, который их вызвал.

Система приобретенного иммунитета включает в себя многие миллионы клонов лимфоцитов, причем клеткам каждого клона присущи обобщенные для них уникальные рецепторы клеточной поверхности, которые позволяют им связывать специфичный антиген. Однако связывания антигена этими рецепторами обычно недостаточно для стимуляции лимфоцита к пролиферации и дифференцировке в эффекторную клетку, которая может помочь уничтожить патоген. Необходимы также мембраносвязанные коstimулирующие сигналы и разнообразные секретируемые сигналы (цитокины), предоставляемые иными специализированными клетками, находящимися в периферическом лимфоидном органе. Для В-клеток такие сигналы посылаются Т-хелперами, в то время как для Т-клеток их обычно подают дендритные клетки. Эффекторные В-клетки вырабатывают антитела, которые могут действовать дистанционно, помогая обезвреживать внеклеточные патогены и их токсины. Эффекторные Т-клетки, в отличие от них, действуют на локальном уровне — или убивают зараженные клетки хозяина, или помогают другим клеткам уничтожить патоген. Одно из проявлений приобретенного иммунного ответа заключается в том, что некоторые лимфоциты делятся и дифференцируются в клетки памяти, которые при следующем вторжении этого же патогена способны реагировать быстрее и эффективнее. И В- и Т-клетки непрерывно циркулируют по периферическим лимфоидным органам через кровь и лимфу. Только тогда, когда в каком-нибудь периферическом лимфоидном органе они встречают специфичный им чужеродный антиген, они прекращают мигрировать, делятся и дифференцируются в эффекторные клетки или в клетки памяти. Лимфоциты, способные реагировать на аутоантигены, либо изменяют свои рецепторы, либо же уничтожаются, инактивируются или подавляются регуляторными Т-клетками, так что система приобретенного иммунитета обычно избегает атаковать молекулы и клетки хозяина.

25.2. В-клетки и антитела

Позвоночные животные неизбежно умирают от инфекции, если не способны выработать антитела. Антитела защищают нас от инфекции, связываясь с вирусами и микробными токсинами, тем самым инактивируя их (см. рис. 25.2). Когда антитела связываются со вторгшимися патогенами, они также привлекают некоторые из компонентов системы врожденного иммунитета, включая разные типы лейкоцитов и компоненты системы комплемента (мы обсуждали их в главе 24). В результате активированные лейкоциты и компоненты системы комплемента совместно атакуют захватчиков.

Будучи синтезируемыми исключительно В-клетками, антитела вырабатываются в миллиардах форм, каждая со своей аминокислотной последовательностью. Обобщенно называемые **иммуноглобулинами** (в сокращении **Ig**), они являются одними

из самых распространенных белковых компонентов крови, составляя около 20% от всей белковой массы плазмы. Млекопитающие вырабатывают антитела пяти классов, представители каждого из которых опосредуют характерную биологическую реакцию после связывания антигена. В этом разделе мы рассмотрим структуру и обсудим функции антител, а также поговорим о том, как они взаимодействуют с антигеном.

25.2.1. В-клетки вырабатывают антитела как в виде антигенных рецепторов на клеточной поверхности, так и в виде секретируемых белков

Все молекулы антител, вырабатываемых отдельно взятой В-клеткой, имеют одинаковые сайты связывания антигена. Первые антитела, вырабатываемые новорожденной В-клеткой, не секретируются из нее, а встраиваются в плазматическую мембрану, где служат рецепторами к антигену. Каждая В-клетка имеет в своей плазматической мембране приблизительно 10^5 таких рецепторов. Как мы обсудим позже, каждый из таких рецепторов устойчиво связан с комплексом трансмембранных белков, который активирует внутриклеточные сигнальные пути, когда антиген связывается с рецептором на внешней стороне клетки.

Всякий клон В-клеток производит антитела одного вида с уникальным участком связывания антигена. Когда антиген (при помощи Т-хелпера) активирует наивную В-клетку или В-клетку памяти, эта В-клетка делится и дифференцируется в секретирующую антитела эффекторную клетку. Такие эффекторные клетки продуцируют и секретируют большие количества растворимых (а не мембраносвязанных) антител, которые имеют тот же уникальный участок связывания антигена, что и антитело на клеточной поверхности, которое ранее послужило рецептором к антигену (рис. 25.17). Эффекторные В-клетки могут начать секретировать антитела, еще будучи маленькими лимфоцитами, но заключительная стадия их созревания — крупная плазматическая клетка (см. рис. 25.7, б), которая непрерывно секретирует антитела с потрясающей скоростью около 5 000 молекул в секунду. Хотя

большинство плазматических клеток умирает через несколько дней, некоторые живут в костном мозге в течение многих месяцев и даже лет и продолжают секретировать антитела в кровь, помогая обеспечить долгосрочную защиту организма от патогена, вызвавшего их продукцию.

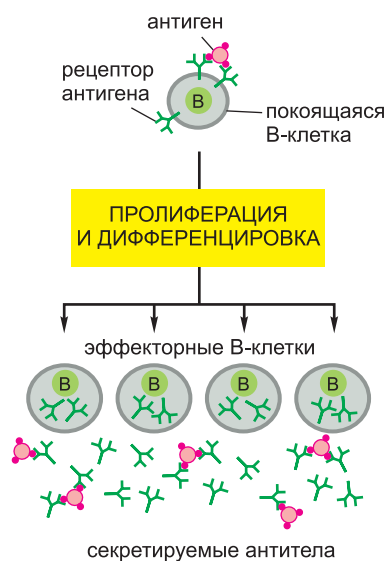
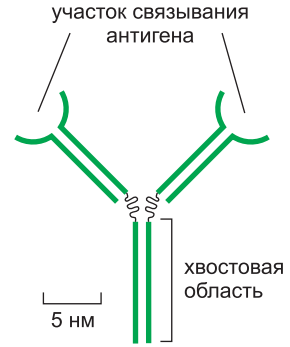


Рис. 25.17. Мембраносвязанные и секретируемые антитела, порожденные клоном В-клеток. Когда антиген (при помощи Т-хелпера — не показано) связывается с наивной В-клеткой или В-клеткой памяти и тем самым активирует ее, последняя делится и дифференцируется в эффекторные клетки. Эффекторные клетки продуцируют и секретируют антитела с уникальным сайтом связывания антигена, идентичным таковому у их первоначального мембраносвязанного антитела, которое служило им рецептором антигена.

Рис. 25.18. Схематическое изображение молекулы антитела. Следует иметь в виду, что два участка связывания антигена идентичны друг другу.



25.2.2. Типичное антитело имеет два идентичных сайта связывания антигена

Простейшие антитела представляют собой Y-образные молекулы с двумя идентичными участками связывания антигена — по одному на концах обоих плеч Y-образной структуры (рис. 25.18). Ввиду наличия двух участков связывания антигена их называют *двухвалентными*. Если при этом антиген имеет три и более антигенные детерминанты, то молекулы двухвалентных антител могут образовать с ним перекрестные связи и получится обширная сеть (рис. 25.19), которую макрофаги могут легко фагоцитировать и подвергнуть деградации. Эффективность связывания антигена и образования перекрестных связей значительно возрастает благодаря имеющейся у большинства антител гибкой *шарнирной области*, за счет которой расстояние между двумя связывающими антиген участками может изменяться (рис. 25.20).

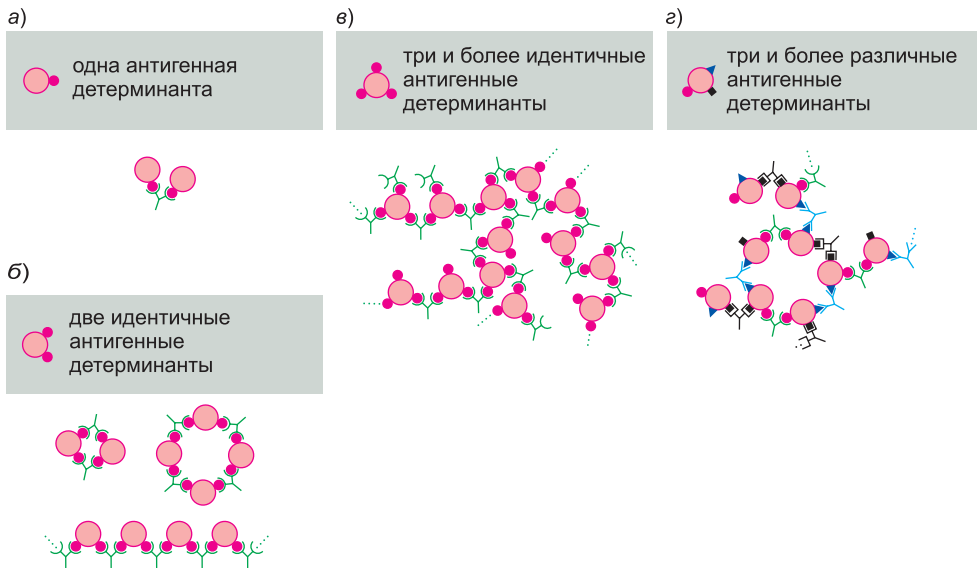


Рис. 25.19. Взаимодействия типа антитело-антиген. Поскольку антитела имеют два идентичных участка связывания антигена, они могут образовывать с антигенами перекрестные связи. Тип образуемых комплексов вида антитело-антиген зависит от числа антигенных детерминант на антигене. а–в) Антитело одного вида (моноклональное антитело) показано в связке с антигенами, содержащими одну, две или три копии антигенной детерминанты одного типа. Антигены с двумя идентичными антигенными детерминантами могут образовывать с такими антителами маленькие циклические комплексы или линейные цепи, в то время как антигены с тремя и более идентичными антигенными детерминантами могут образовывать большие трехмерные сети, которые легко выпадают из раствора в осадок. г) В большинстве своем антигены имеют несколько разных антигенных детерминант (см. рис. 25.29, а), и разные антитела, которые распознают разные детерминанты, могут совместно участвовать в сшивании антигена в большие трехмерные сети.

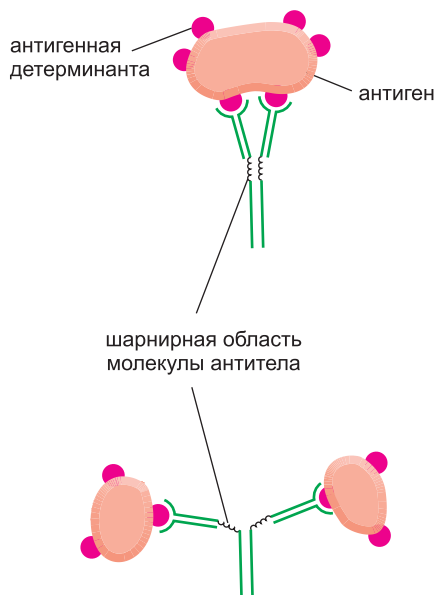


Рис. 25.20. Шарнирная область молекулы антитела. Благодаря своей гибкости шарнирная область улучшает эффективность связывания антигена и образования перекрестных связей.

Защитное действие антител обусловлено не просто их способностью связывать антиген с образованием перекрестно связанных сетей. Хвостовая область Y-образной молекулы опосредует многие другие функции антител. Как мы увидим чуть позже, антитела с одинаковыми участками связывания антигена могут иметь разные хвостовые области. Тип хвостовой области определяет характерные функциональные свойства антитела, такие, например, как способность активировать систему комплемента, связываться с фагоцитирующими клетками или, положим, пересекать плацентарный барьер и переходить от матери к плоду.

25.2.3. Молекула антитела состоит из тяжелых и легких цепей

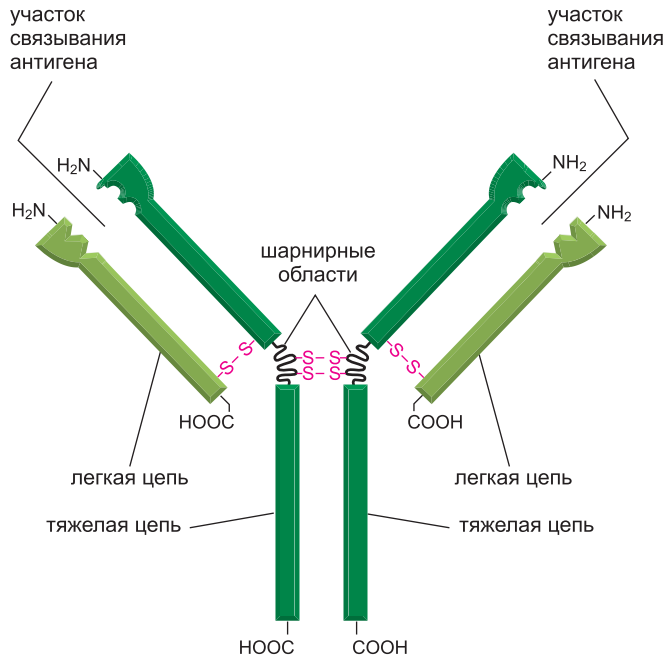
Основная структурная единица молекулы антитела состоит из четырех полипептидных цепей: двух идентичных **легких (L) цепей** (каждая из которых содержит около 220 аминокислот) и двух идентичных **тяжелых (H) цепей** (каждая из которых обычно содержит примерно по 440 аминокислот). Эти четыре цепи связаны воедино сочетанием нековалентных и ковалентных (дисульфидных) связей. Молекула состоит из двух идентичных половин, обе с одним и тем же участком связывания антигена. Обычно легкие и тяжелые цепи совместно формируют связывающую антиген поверхность (рис. 25.21).

25.2.4. Существует пять классов тяжелых цепей антител с присущими им характерными биологическими свойствами

У млекопитающих есть пять *классов* антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM; каждому из них присущ свой собственный класс тяжелых цепей: α , δ , ϵ , γ и μ соответственно. Молекулы антител IgA содержат α -цепи, молекулы антител IgG — γ -цепи и так далее. Кроме того, существует ряд подклассов иммуноглобулинов IgG и IgA; например, выделяют четыре подкласса иммуноглобулинов IgG человека (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4), состоящих, соответственно, из тяжелых цепей γ_1 , γ_2 , γ_3 и γ_4 . Различные тяжелые цепи придают шарнирной и хвостовой областям антител разные конформации, так что каждый класс (и подкласс) иммуноглобулинов обладает своими характерными свойствами.

Имуноглобулины **IgM**, которые содержат тяжелые μ -цепи, представляют собой класс антител, которые всегда синтезируются первыми в развивающихся В-клетках, хотя в конечном счете (когда их стимулирует антиген) многие В-клетки переключаются на производство антител других классов (обсудим это чуть позже). Первые клетки из В-клеточной линии дифференцировки, начинающие вырабаты-

Рис. 25.21. Схематичное изображение молекулы двухвалентного антитела. Она состоит из четырех полипептидных цепей — двух идентичных тяжелых цепей и двух идентичных легких цепей. Оба участка связывания антигена идентичны друг другу и каждый из них образован N-концевой областью легкой цепи и N-концевой областью тяжелой цепи. Пара тяжелых цепей участвует в формировании также хвостовой и шарнирной областей антитела.



вать Ig, — *про-В-клетки*, которые синтезируют только μ -цепи. Они дают начало *пре-В-клеткам*, в которых μ -цепи связываются с так называемыми *суррогатными легкими цепями* (заменяющими истинные легкие цепи) и встраиваются в плазматическую мембрану. Сигналы от такого рецептора пре-В-клетки необходимы клетке для перехода на следующую стадию развития, на которой она синтезирует истинные легкие цепи. Легкие цепи связываются с μ -цепями, вытесняя суррогатные легкие цепи, что приводит к формированию четырехцепочечных молекул IgM (из двух тяжелых μ -цепей и двух легких цепей каждая). Затем эти молекулы встраиваются в плазматическую мембрану, где выполняют функции рецепторов антигенов. На этой стадии клетку называют *незрелой наивной В-клеткой*. Покинув костный мозг, клетка начинает вырабатывать также и **IgD** молекулы клеточной поверхности, причем с таким же участком связывания антигена, что и у молекул IgM. На данном этапе ее называют *зрелой наивной В-клеткой*. Именно такая клетка способна реагировать на чужеродный антиген в периферических лимфоидных органах (**рис. 25.22**).

Имуноглобулины класса IgM — не только антитела, первыми появляющиеся на поверхности развивающейся В-клетки. Это еще и основная группа антител, секретируемых в кровь на ранних стадиях первичной реакции антителообразования (первичного гуморального ответа), развиваемой при первой встрече с антигеном. (В отличие от IgM, молекулы IgD секретируются лишь в малых количествах и, по-видимому, выступают главным образом в роли антигенных рецепторов на клеточной поверхности.) В секретируемой форме, IgM представляет собой пентамер, состоящий из пяти четырехцепочечных единиц и в связи с этим обладающий в общей сложности 10 участками связывания антигена. Каждый такой пентамер содержит одну копию еще одной полипептидной цепи, называемой *J- (joining, соединительной) цепью*. J-цепь продуцируется секретирующими IgM клетками и ковалентно встраивается между двух соседних хвостовых областей (**рис. 25.23**).

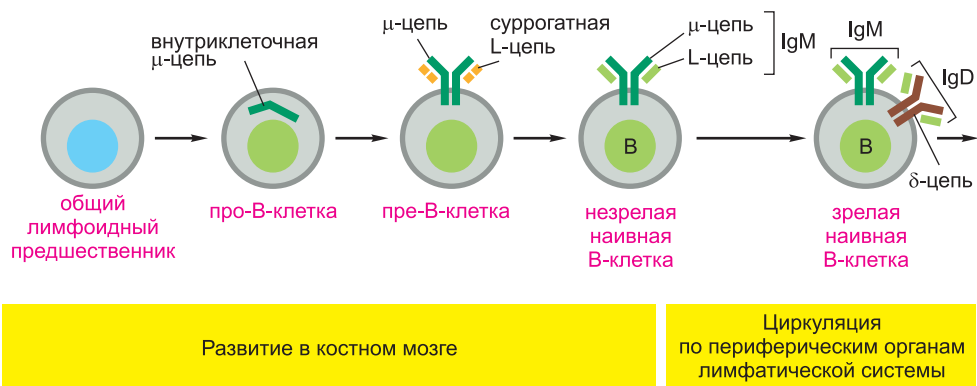
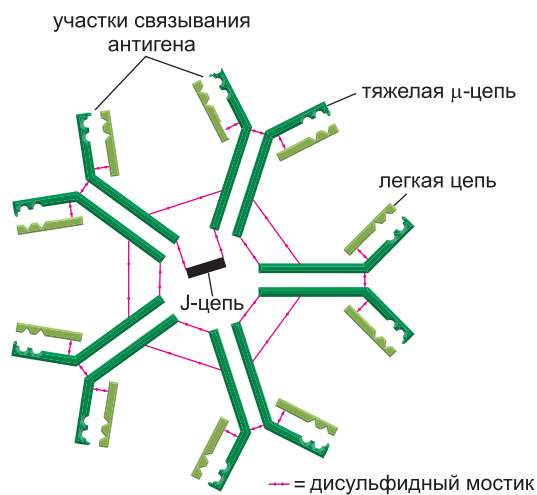


Рис. 25.22. Основные стадии развития В-клетки. Все представленные на рисунке стадии протекают независимо от антигена. Про-В-клетка производит μ -цепи, но они остаются в эндоплазматическом ретикулуме, пока не будут синтезированы суррогатные легкие цепи. Все Ig молекулы клеточной поверхности (не показано) все они связаны с трансмембранными белками, которые помогают передавать сигналы внутрь клетки (см. рис. 25.70). Когда зрелые наивные В-клетки активируются специфичным чужеродным антигеном и Т-хелперами в периферических лимфоидных органах, они делятся и дифференцируются — либо в клетки, синтезирующие антитела, либо в клетки памяти (не показано).

Когда антиген с несколькими идентичными антигенными детерминантами (см. рис. 25.19) связывается с одной секретируемой пентамерной молекулой IgM, он видоизменяет структуру пентамера, позволяя ему активировать систему комплемента. Как обсуждалось в главе 24, когда такой антиген находится на поверхности вторгшегося патогена, подобная активация системы комплемента может или пометить патоген для фагоцитоза, или напрямую убить его. Как мы увидим чуть позже, помимо этого, активация системы комплемента может значительно усилить иммунную реакцию на антиген: к примеру, за счет связывания активированного компонента системы комплемента с комплексом антитело-антиген, способность этого антигена стимулировать опосредованную В-клетками реакцию может возрасти более чем в тысячу раз (см. рис. 25.71, *a*).



Антителами **IgG** представлен главный класс циркулирующих в крови иммуноглобулинов. Они имеют вид

Рис. 25.23. Пентамерная молекула IgM. Дисульфидные мостики (красные) скрепляют пять четырехцепочечных единиц между собой. Единственная J-цепь, структура которой напоминает структуру одиночного домена Ig (обсудим это позже), ковалентно соединена дисульфидными мостиками с хвостами двух тяжелых μ -цепей. J-цепь нужна для образования пентамера. J-цепь используется для присоединения каждой последующей четырехцепочечной единицы IgM, а затем отбрасывается, за исключением последней, которая остается в структуре. Обратите внимание, что молекулы IgM не имеют шарнирных областей.

четырёхцепочечных мономеров (см. рис. 25.21) и производятся в больших количествах во время вторичных реакций антителигенеза (вторичного гуморального ответа). Наряду с активацией системы комплемента, хвостовая область молекулы IgG связывается со специфическими рецепторами на макрофагах и нейтрофилах. Преимущественно посредством таких **Fc-рецепторов** (названных так потому, что хвостовые области антител называют *Fc*-областями), эти фагоцитирующие клетки связывают, заглатывают и уничтожают инфекционные микроорганизмы, которые оказались покрытыми антителами IgG, выработанными в ответ на заражение (рис. 25.24).

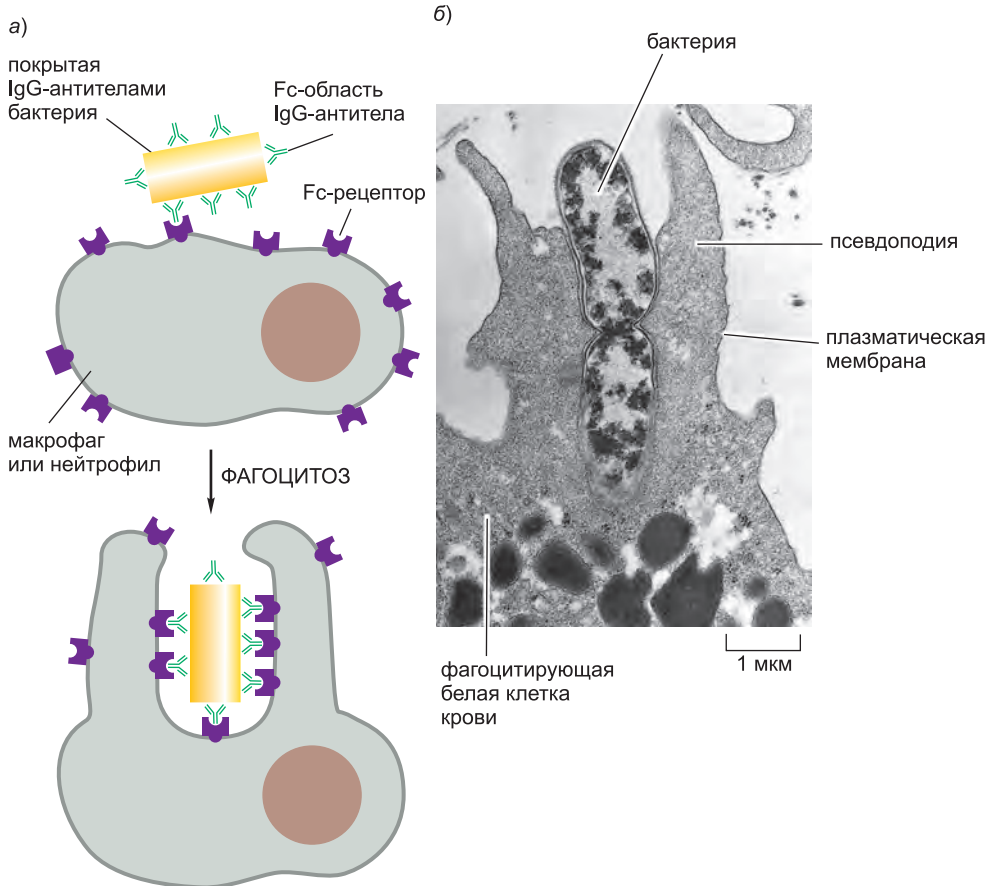


Рис. 25.24. Активируемый антителами фагоцитоз. а) Покрытая антителами IgG бактерия эффективно фагоцитируется макрофагом или нейтрофилом, несущим на себе рецепторы клеточной поверхности, которые связываются с хвостовой (Fc) областью молекул IgG. Процесс фагоцитоза активируется связыванием покрытой антителами бактерии с этими Fc-рецепторами. Хвостовую область всякой молекулы антитела обозначают Fc (**F**ragment, **c**rystallizable), потому что, когда антитела расщепляются протеолитическим ферментом папаином, фрагменты, содержащие хвостовую область, легко кристаллизуются. б) Электронный микроснимок нейтрофила, фагоцитирующего покрытую IgG бактерию, которая находится в процессе деления. Процесс, в ходе которого антитела (или комплемент), покрывающие патоген, увеличивают эффективность его фагоцитоза, называют *опсонизацией*. (Снимок б — с любезного позволения Dorothy F. Bainton заимствован из R. C. Williams, Jr. and H. H. Fudenberg, *Phagocytic Mechanisms in Health and Disease*. New York: Intercontinental Medical Book Corporation, 1971.)

Некоторые подклассы IgG включают в себя антитела, которые единственные могут пройти от матери к плоду через плаценту. Клетки плаценты, находящиеся в контакте с материнской кровью, имеют Fc-рецепторы, которые связывают перенесенные кровью молекулы IgG и направляют их дальнейшее прохождение к плоду. Молекулы антител, связанные с такими рецепторами, сначала попадают в плацентарные клетки при помощи опосредованного рецепторами эндоцитоза. Затем они транспортируются через клетки в специальных везикулах и высвобождаются посредством экзоцитоза в кровь плода (этот процесс называют *транскитозом* — см. рис. 25.26). Поскольку антитела других классов не связываются с этими специфическими Fc-рецепторами, они не могут пройти через плаценту. Позже IgG выделяется в молоко матери и всасывается из кишечника новорожденного в кровь путем транскитоза, обеспечивая ребенку защиту от инфекции.

IgA — основной класс антител в секретах, таких как слюна, слезы, молоко, а также выделения дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. IgA — пребывающий в крови четырехцепочечный мономер, который, прежде чем высвободиться в секреты, собирается в димер путем добавления двух других полипептидных цепей (рис. 25.25). Он переносится через секреторные эпителиальные клетки из внеклеточной жидкости в выделяемую жидкость путем транскитоза, опосредованного Fc-рецепторами другого типа, которые являются уникальными для секреторного эпителия (рис. 25.26). Такой Fc-рецептор может транспортировать в секреты также и IgM (однако менее эффективно), и, вероятно, именно по этой причине индивидуумы с недостаточностью IgA (самой распространенной формой недостаточности образования антител), лишь умеренно страдают от этого дефекта.

Хвостовая область молекул **IgE**, которые представляют собой четырехцепочечные мономеры, связывается (с необычайно высоким сродством $K_a \approx 10^{10}$ литр/моль) с Fc-рецепторами еще одного класса. Эти рецепторы расположены на поверхности *тучных клеток* в тканях и *базофилов* в крови. Связанные с ними молекулы

IgE выступают в роли пассивно приобретенных рецепторов антигена. Связывание антигена побуждает тучную клетку или базофил выделять набор цитокинов и биологически активных аминов, особенно *гистамин* (рис. 25.27). Гистамин заставляет кровеносные сосуды расширяться и делать свои стенки менее плотными, что, в свою очередь, помогает лейкоцитам, антителам и компонентам системы комплемента выходить из них в участки, где были активированы тучные клетки. Симптомы таких *аллергических* реакций, как сенная лихорадка, астма и рапивница, в значительной степени связаны с высвобождением

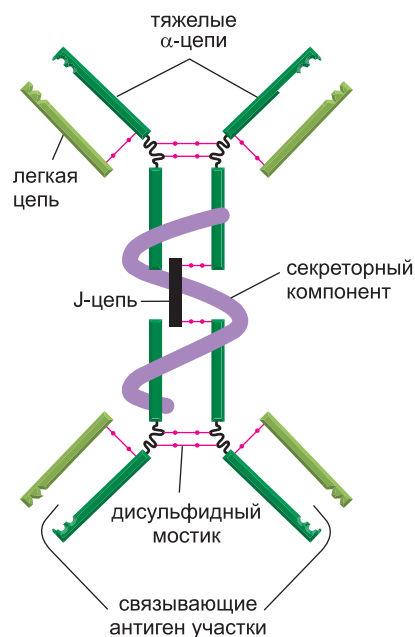


Рис. 25.25. Схематическое изображение димерной молекулы IgA, встречающегося в секретах. Вдобавок к двум мономерам IgA, в молекуле имеется одна J-цепь и дополнительная полипептидная цепь, называемая *секреторным компонентом*, которая образуется из Fc-рецептора (см. рис. 25.26) и, как думают, защищает молекулы IgA от переваривания протеолитическими ферментами, наполняющими секреты.



Рис. 25.26. Механизм переноса молекулы димерного IgA через эпителиальную клетку. Молекула IgA, в форме содержащего J-цепь димера, связывается с трансмембранным рецепторным белком на базальной поверхности секреторной эпителиальной клетки. (J-цепь на этой схеме не показана.) Комплексы рецептор–IgA поглощаются рецептор-опосредованным эндоцитозом, переносятся через цитоплазму эпителиальной клетки в пузырьках и выделяются в просвет на противоположной стороне клетки экзоцитозом. Когда димер IgA выходит в просвет, та часть Fc-рецепторного белка, которая связана с ним (секреторный компонент), отщепляется от своего трансмембранного хвоста, тем самым высвобождая антитело в форме, представленной на рис. 25.25.

гистамина из тучных клеток и базофилов. Кроме того, тучные клетки выделяют факторы, которые привлекают и активируют специфический тип лейкоцитов — *эозинофилы*. Эозинофилы тоже имеют Fc-рецепторы, связывающие молекулы IgE, и могут убивать внеклеточных паразитических червей, особенно если черви покрыты антителами IgE.

Помимо пяти классов тяжелых цепей, встречающихся в молекулах антител, у высших позвоночных есть легкие цепи двух типов — κ и λ , — которые, по всей видимости, неотличимы одна от другой в функциональном плане. Легкие цепи обоих типов могут сочетаться с тяжелыми цепями любого из пяти классов. Однако всякая отдельно взятая молекула антитела всегда содержит идентичные легкие цепи и идентичные тяжелые цепи: к примеру, молекула IgG может иметь или легкие κ -цепи, или легкие λ -цепи, но не ту и другую вместе. В результате связывающие антиген участки антитела всегда идентичны. Такая симметрия имеет решающее значение для выполнения присущей секретируемым антителам функции образования перекрестных связей (см. рис. 25.19).

Антитела всех классов могут вырабатываться и в мембраносвязанной форме, и в растворимой секретируемой форме. Эти две формы отличаются только С-концами своих тяжелых цепей. У тяжелых цепей молекул мембраносвязанных антител С-конец трансмембранный и гидрофобный, а потому он закрепляет их в липидном бислое плазматической мембраны В-клетки. У тяжелых цепей молекул

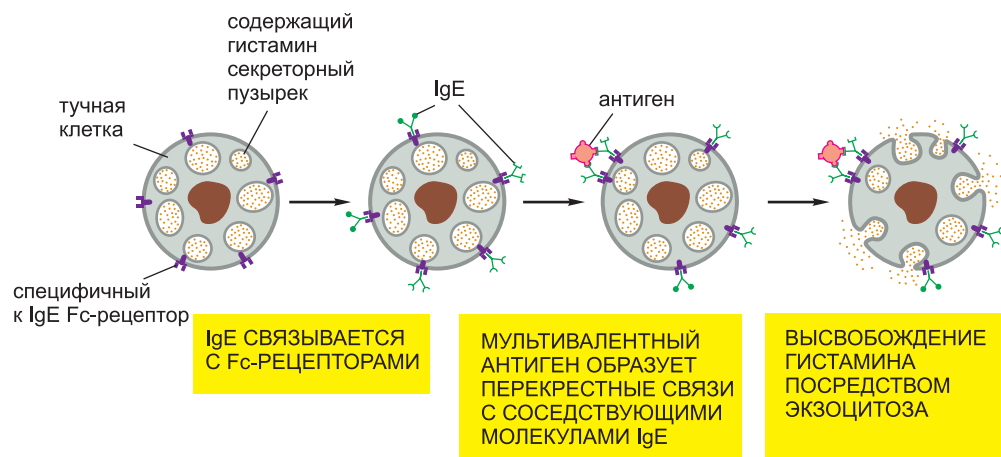


Рис. 25.27. Роль IgE в секреции гистамина тучными клетками. Тучная клетка (или базофил) связывает молекулы IgE после их секреции эффекторными В-клетками. Растворимые антитела IgE связываются с находящимися на поверхности тучных клеток Fc-рецепторными белками, которые специфически узнают Fc-область этих антител. Связанные молекулы IgE служат рецепторами антигена на поверхности клетки. Таким образом, в отличие от В-клеток, каждая тучная клетка (и базофил) имеет набор антител на поверхности клетки с широким разнообразием участков связывания антигена. Когда молекула антигена связывается с такими мембраносвязанными антителами IgE так, что образуются перекрестные связи с их соседями, это служит для тучной клетки сигналом к выделению (путем экзоцитоза) гистамина и других локальных медиаторов.

секретируемых антител, напротив, С-конец гидрофильный и поэтому позволяет им покидать клетки. Переключение между формами молекул вырабатываемых антител происходит потому, что активация В-клеток антигеном (и Т-хелперами) вызывает изменения в синтезе и процессинге РНК-транскриптов Н-цепи в ядре (см. рис. 7.99).

Свойства присущих человеку антител различных классов сведены в [таблицу 25.1](#).

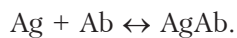
Таблица 25.1. Свойства основных классов антител человека

| СВОЙСТВА | КЛАСС АНТИТЕЛ | | | | |
|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | IgM | IgD | IgG | IgA | IgE |
| Тяжелые цепи | μ | δ | γ | α | ϵ |
| Легкие цепи | к или λ | к или λ | к или λ | к или λ | к или λ |
| Число четырехцепочечных единиц | 5 | 1 | 1 | 1 или 2 | 1 |
| Процентная доля от общего числа Ig крови | 10 | <1 | 75 | 15 | <1 |
| Активация системы комплемента | ++++ | – | ++ | – | – |
| Прохождение плацентарного барьера | – | – | + | – | – |
| Связывание с макрофагами и нейтрофилами | – | – | + | – | – |
| Связывание с тучными клетками и базофилами | – | – | – | – | + |

25.2.5. Сила взаимодействия антитела с антигеном зависит как от числа, так и от сродства участков связывания антигена

Связывание любого антигена со своим антителом, как и связывание всякого субстрата с соответствующим ферментом, является обратимым. Сила их взаимодействия определяется суммой многих относительно слабых нековалентных сил, а именно водородных связей, гидрофобных и ван-дер-ваальсовых сил, а также ионных взаимодействий. Все эти слабые силы эффективны только тогда, когда молекула антигена достаточно близка к антителу и некоторые из атомов первой могут вписаться в комплементарные углубления на поверхности второго. Комплементарными областями четырехцепочечной единицы антитела служат два ее идентичных участка связывания антигена; соответствующие им области на антигене — антигенные детерминанты, также называемые эпитопами (рис. 25.28). В большинстве своем антигенные макромолекулы имеют много различных антигенных детерминант и называются *мультивалентными*; если две и более детерминанты идентичны (как, скажем, в полимере с повторяющейся структурой), то несущий их антиген называется *поливалентным* (рис. 25.29).

Обратимая реакция связывания между антигеном с единственной антигенной детерминантой (обозначим его Ag) и единственным участком связывания антигена (обозначим его Ab) может быть описана выражением вида



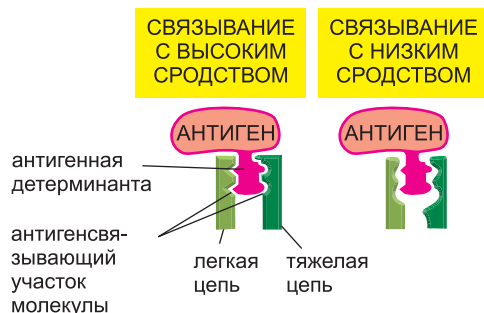
Точка равновесия зависит и от концентраций Ab и Ag, и от силы их взаимодействия. Ясно, что по мере увеличения концентрации антигенных детерминант Ag с ними будет связываться все большая доля Ab. Сила взаимодействия обычно выражается через **константу аффинности** (K_a) (см. рис. 3.43), где

$$K_a = [\text{AgAb}] / [\text{Ag}][\text{Ab}]$$

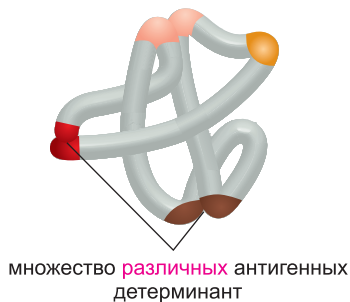
(квадратными скобками обозначены концентрации каждого компонента в точке равновесия).

Можно определить константу аффинности, известную также под названием константы ассоциации, измеряя концентрацию свободных детерминант Ag, необходимую для заполнения половины антигенсвязывающих участков антитела. Когда половина участков заполнена, $[\text{AgAb}] = [\text{Ab}]$ и $K_a = 1/[\text{Ag}]$. Таким образом, обратная величина той концентрации антигена, которая дает половину максимально возможного связывания, равна константе аффинности этого антитела к этому антигену. Обычно

Рис. 25.28. Связывание антигена с антителом. На этом весьма схематичном рисунке антигенная детерминанта макромолекулы показана во взаимодействии с одним из участков связывания антигена на молекулах двух разных антител — одного с высоким сродством, а другого с низким. Антигенную детерминанту в участке связывания удерживают различные слабые нековалентные силы, и участок с лучшим соответствием антигену обладает большим сродством. Обратите внимание, что в формировании участка связывания антигена обычно участвуют и легкая, и тяжелая цепи молекулы антитела.



а) МУЛЬТИВАЛЕНТНЫЙ АНТИГЕН



б) ПОЛИВАЛЕНТНЫЙ АНТИГЕН

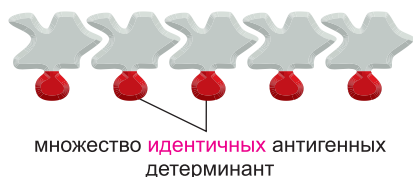


Рис. 25.29. Молекулы с многочисленными антигенными детерминантами. а) Показан глобулярный белок с несколькими *разными* антигенными детерминантами. Различные области полипептидной цепи обычно сходятся в свернутой структуре и формируют на поверхности белка антигенные детерминанты, как показано на примере трех из четырех имеющихся детерминант. б) Показана полимерная структура со многими *идентичными* антигенными детерминантами.

ее значения располагаются в диапазоне от $5 \cdot 10^4$ до 10^{11} литр/моль.

Аффинность антитела к антигенной детерминанте описывает силу связывания одной-единственной копии этой антигенной детерминанты с одним-единственным участком связывания антигена и не зависит от числа участков связывания антигена. Однако если поливалентный антиген, несущий многочисленные копии одной и той же антигенной детерминанты, сочетается с поливалентным антителом IgM (см. рис. 25.23), то сила связывания оказывается намного большей, потому что для разобщения такого антигена с таким антителом должны быть одновременно

разорваны все связи вида антиген-антитело. Даже двухвалентная молекула IgG может связать поливалентный антиген по крайней мере в 100 раз сильнее, если в образовании связи будут задействованы оба участка связывания антигена, а не один из них. Общая сила связи двухвалентного или поливалентного антитела с поливалентным антигеном называется **авидностью** взаимодействия.

Если средство участков связывания антигена в молекулах IgG и IgM одинаково, то молекула IgM (с 10 участками связывания) будет иметь намного большую авидность к поливалентному антигену, чем молекула IgG (которая имеет всего два участка связывания). Такая разница в авидности, зачастую доходящая до 10^4 и более раз, имеет огромное значение, потому что антитела, вырабатываемые в начале иммунного ответа, обычно обладают намного более низким средством, чем вырабатываемые позже. В силу своей общей высокой авидности IgM — главный класс Ig, производимый в начале первичных иммунных реакций, — может эффективно выполнять свои функции даже тогда, когда каждый из его участков связывания имеет низкое средство.

Итак, мы рассмотрели общую структуру антител и обсудили их функции. Теперь мы разберем детали их структуры, выявленные в ходе исследований аминокислотной последовательности и трехмерной структуры.

25.2.6. Легкие и тяжелые цепи антител состоят из константных и переменных областей

Сравнение аминокислотных последовательностей молекул различных антител показывает их поразительную особенность, со следующими из нее важными генетическими выводами. И легкие, и тяжелые цепи имеют переменную последовательность на своих N-концах и константную последовательность на своих C-концах.

Следовательно, когда мы сравниваем последовательности аминокислот многих различных κ -цепей, С-концевые части оказываются одинаковыми или различаются лишь незначительно, тогда как все N-концевые половины отличаются друг от друга. Легкие цепи состоят из **константной области** приблизительно 110 аминокислот в длину и **варибельной области** того же размера. Варибельная область тяжелых цепей также составляет около 110 аминокислот в длину, но константная область примерно в три или четыре раза длиннее (330 или 440 аминокислот, в зависимости от класса) (рис. 25.30).

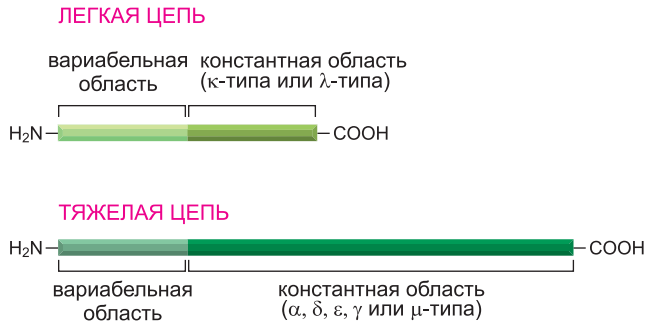


Рис. 25.30. Константные и варибельные области цепей иммуноглобулина. Варибельные области легких и тяжелых цепей образуют участки связывания антигена, в то время как константные области тяжелых цепей определяют иные биологические свойства антитела.

Именно N-концевые участки легких и тяжелых цепей, объединяясь, образуют сайт связывания антигена, при этом варибельность их аминокислотных последовательностей обеспечивает структурную основу разнообразия антигенсвязывающих участков. Самое большое разнообразие обнаруживается в трех небольших **гиперварибельных областях** в варибельных областях и легких, и тяжелых цепей; остальные части варибельной области, известные как *каркасные области*, относительно постоянны.

Всего лишь около 5–10 аминокислот в каждой гиперварибельной области образуют фактический участок связывания антигена (рис. 25.31). В результате размер антигенной детерминанты, которую опознает антитело, как правило, сравнительно мал. К примеру, она может состоять из менее чем 10 аминокислот на поверхности глобулярного белка.

25.2.7. Легкие и тяжелые цепи состоят из повторяющихся Ig-доменов

И легкая, и тяжелая цепи состоят из повторяющихся сегментов — каждый имеет приблизительно 110 аминокислот в длину и содержит один внутрицепочечный дисульфидный мостик. Каждый повторяющийся сегмент сворачивается независимо от остальных и образует компактную функциональную единицу, называемую **иммуноглобулиновым (Ig-) доменом**. Как показано на рис. 25.32, легкая цепь состоит из одного варибельного (V_L) и одного константного (C_L) домена (эквивалент варибельной и константной областей, показанных в верхней части рис. 25.30). Домен V_L совместно с варибельным (V_H) доменом тяжелой цепи образуют антигенсвязываю-

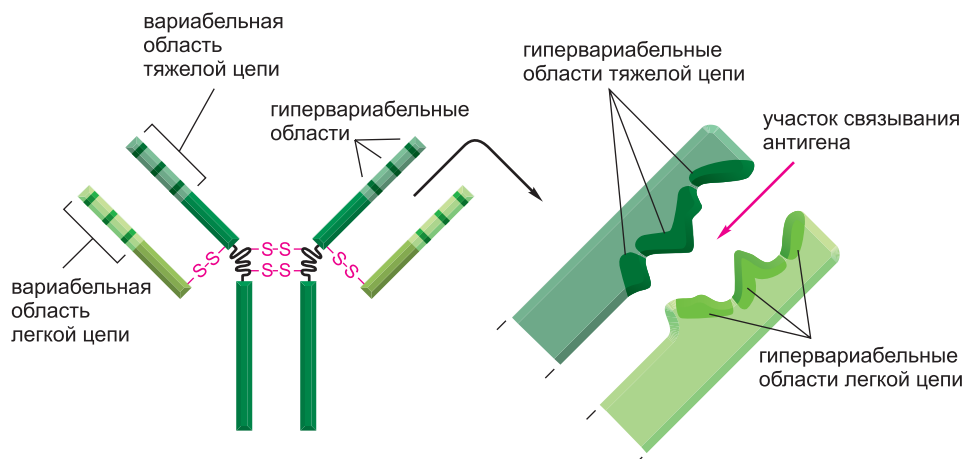


Рис. 25.31. Гиперварибельные области антитела. Крайне схематическое изображение антигенсвязывающего участка молекулы антитела, образованного тремя гиперварибельными областями легкой цепи и тремя гиперварибельными областями тяжелой цепи.

щую область. Домен C_L соединяется с первым константным доменом тяжелой цепи (C_{H1}), а остальные константные домены тяжелых цепей формируют F_c -область, которая определяет другие биологические свойства антитела. В большинстве своем

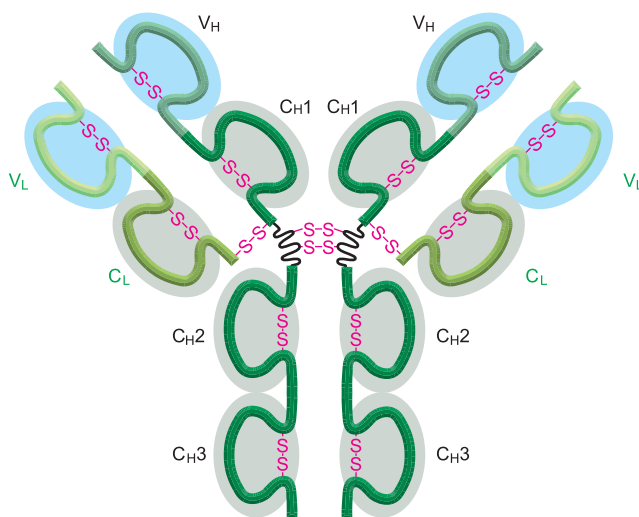


Рис. 25.32. Домены иммуноглобулина. И легкие и тяжелые цепи в молекуле антитела свернуты в подобные друг другу повторяющиеся домены. Варибельные домены (на синем фоне) легких и тяжелых цепей (V_L и V_H) образуют участки связывания антигена, в то время как константные домены тяжелых цепей (главным образом C_{H2} и C_{H3}) определяют иные биологические свойства молекулы. Тяжелые цепи антител IgM и IgE не имеют шарнирной области и содержат дополнительный константный домен (C_{H4}). В молекуле антитела эти цепи удерживаются в паре за счет гидрофобных взаимодействий между доменами на соседствующих цепях: домен V_L связывается с доменом V_H , домен C_L связывается с доменом C_{H1} и так далее (см. рис. 25.34). Все антитела гликозилированы по своим доменам C_{H2} (не показано); к различным антителам присоединяются различные олигосахаридные цепи, природа которых оказывает влияние на биологические свойства антитела.

тяжелые цепи имеют по три константных домена (C_H1 , C_H2 и C_H3), однако тяжелые цепи антител IgM и IgE содержат по четыре константных домена.

Сходство между доменами наводит на мысль, что цепи антител возникли в ходе эволюции за счет последовательных дупликаций гена, начавшихся с родоначального гена, кодирующего единственный 110-аминокислотный домен с неизвестной функцией. Каждый домен константной области тяжелой цепи кодируется отдельной кодирующей последовательностью (экзоном), что свидетельствует в пользу этой гипотезы (рис. 25.33).

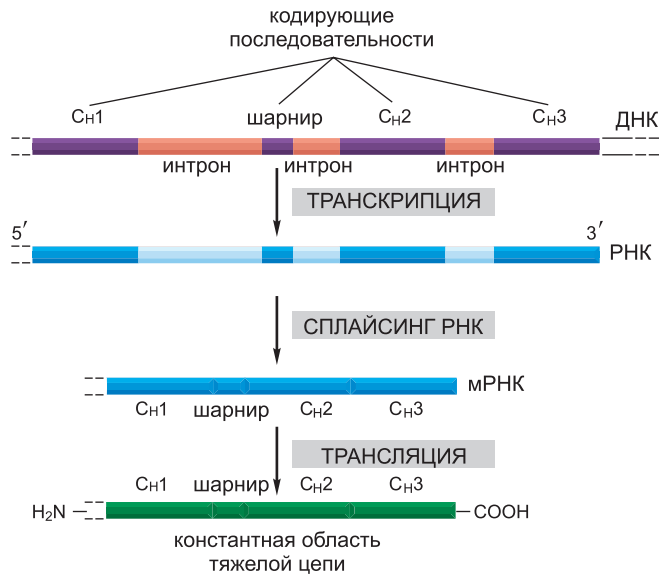


Рис. 25.33. Организация последовательностей ДНК, кодирующих константную область тяжелой цепи антитела, например IgG. Кодированные последовательности (экзоны) каждого отдельно взятого домена и шарнирной области разделены некодирующими последовательностями (интронами). Интронные последовательности удаляются в ходе сплайсинга первичных РНК-транскриптов при созревании мРНК. Присутствие интронов в ДНК, как полагают, облегчило случайные дупликации сегментов ДНК, давших начало генам антител в ходе эволюции (обсуждалось в главе 4). Последовательности ДНК и РНК, кодирующие переменную область тяжелой цепи, не показаны.

25.2.8. Участок связывания антигена построен из гипервариабельных петель

Многие фрагменты антител, равно как и некоторые целые молекулы, были изучены при помощи рентгеноструктурного анализа. На основании полученных данных мы можем объяснить принцип образования миллиардов различных участков связывания антигена, обладающих при этом общей структурной основой.

Как видно из рис. 25.34, у всех Ig-доменов весьма схожая трехмерная структура, напоминающая собой сандвич из двух β -листов, скрепленных дисульфидным мостиком. Как мы обсудим чуть позже, многие другие белки, находящиеся на поверхности лимфоцитов и иных клеток, многие из которых выступают в роли молекул межклеточной адгезии (рассматривали в главе 19), содержат подобные домены и, следовательно, относятся к необычайно многочисленному *суперсемейству иммуноглобулинов (Ig)*.

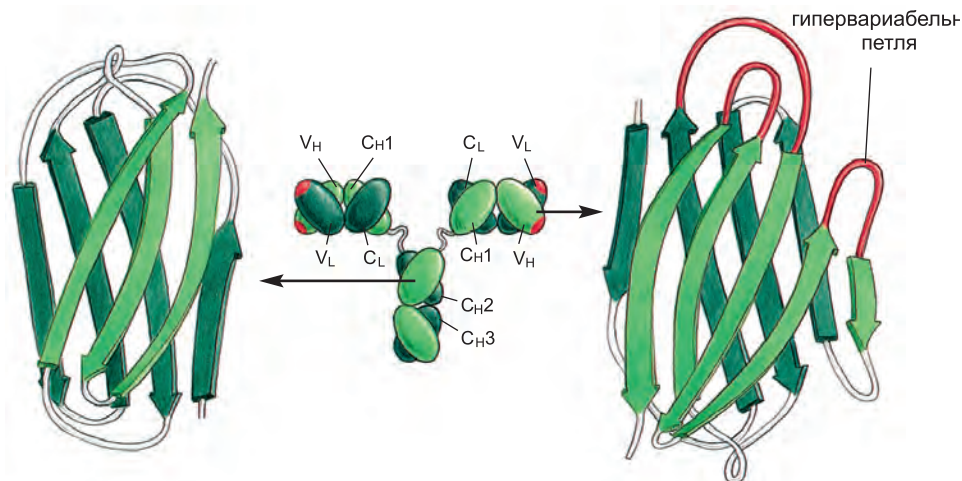


Рис. 25.34. Пространственная структура молекулы антитела IgG, построенная на основании данных рентгеноструктурного анализа. В середине рисунка представлена структура всего белка, слева помещена структура константного домена, а справа — переменного домена. Оба домена состоят из двух β-листов, соединенных между собой дисульфидным мостиком (не показан). Обратите внимание, что все гипервариабельные области (красные) образуют петли на дальнем конце переменного домена, где они, объединяясь, образуют фрагмент антигенсвязывающего участка (см. также рис. 3.41).

Переменные домены молекул антител уникальны тем, что каждый имеет свой собственный набор из трех гипервариабельных областей, организованных в виде трех *гипервариабельных петель* (см. рис. 25.34). Гипервариабельные петли и легких, и тяжелых переменных доменов объединяются друг с другом и образуют участок связывания антигена. Поскольку переменный домен молекулы всякого антитела состоит из высоко консервативного жесткого каркаса, а гипервариабельные петли присоединены к нему с одного конца, изменения лишь в длине и аминокислотной последовательности гипервариабельных петель могут быть источником огромного разнообразия участков связывания антигена. При этом общая трехмерная структура, необходимая для нормальной работы антитела, остается постоянной.

Рентгеноструктурные исследования кристаллов фрагментов антител, связанных с различными антигенными детерминантами, точно показывают, как в каждом случае гипервариабельные петли легких и тяжелых переменных доменов совместно участвуют в формировании антигенсвязывающей поверхности. Размеры и форма каждого такого участка варьируют в зависимости от конформации полипептидной цепи в гипервариабельных петлях, которая, в свою очередь, определяется последовательностями боковых цепей аминокислот в этих петлях. У разных антител участки связывания очень сильно отличаются по форме — от карманов и бороздок до вогнутых уплощенных поверхностей и даже до выпячиваний (рис. 25.35). Более мелкие лиганды, как правило, связываются с более глубокими карманами, тогда как более крупные чаще всего связываются с уплощенными поверхностями. Кроме того, участок связывания может изменять свою форму после связывания антигена, чтобы лучше соответствовать лиганду.

Теперь, когда мы рассмотрели структуру и функции антител, мы готовы обсудить важнейший вопрос, который волновал иммунологов на протяжении многих

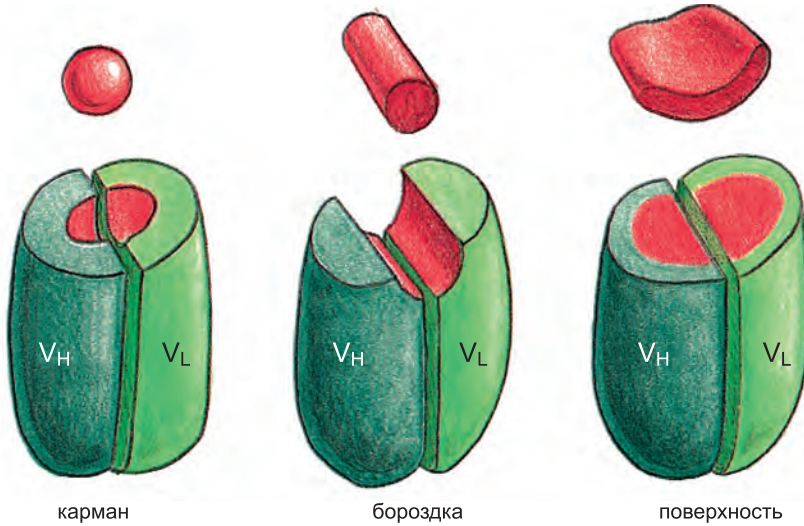


Рис. 25.35. Разнообразие антигенсвязывающих поверхностей антител. Гипервариабельные петли различных V_L - и V_H -доменов могут объединяться, образуя большое разнообразие связывающих поверхностей. Антигенные детерминанты и антигенсвязывающие участки антител показаны красным цветом. Для каждого антитела показано только по одному участку связывания антигена.

лет, — какие генетические механизмы позволяют каждому из нас вырабатывать многие миллиарды различных антител?

Заключение

Антитела защищают позвоночных животных от инфекции, инактивируя вирусы и микробные токсины, а также привлекая систему комплемента и лейкоциты различных типов на борьбу с вторгшимися патогенами. Типичная молекула антитела имеет Y-образную форму и несет два идентичных участка связывания антигена на кончиках развилки Y плюс участки связывания компонентов комплемента и различных рецепторов клеточной поверхности в хвостовой части Y.

Всякий клон В-клеток синтезирует молекулы антитела с уникальным для этого клона участком связывания антигена. Изначально, во время развития В-клетки в костном мозге, молекулы антитела внедряются в плазматическую мембрану, где служат рецепторами антигена. Позже, уже в периферических лимфоидных органах связывание антигена с этими рецепторами, совместно с костимулирующими сигналами от Т-хелперов, стимулирует В-клетки к пролиферации и дифференцировке — или в клетки памяти, или в эффекторные клетки, вырабатывающие антитела. Эффекторные клетки в больших количествах секретируют антитела, обладающие тем же уникальным участком связывания антигена, что и мембраносвязанные антитела.

Типичная молекула антитела состоит из четырех полипептидных цепей: двух идентичных тяжелых цепей и двух идентичных легких цепей. Части тяжелых и легких цепей обычно сочетаются и образуют участки связывания антигена. Существует пять классов антител (IgA, IgD, IgE, IgG и IgM), каждому из которых присуща своя отличительная тяжелая цепь (соответ-

ственно α , δ , ϵ , γ и μ). Тяжелые цепи формируют также хвост (Fc-область) антитела, который определяет, какие другие белки способны связываться с этим антителом, то есть задает биологические свойства антител данного класса. Легкие цепи обоих типов (κ или λ) могут сочетаться с тяжелыми цепями любого класса; данный выбор никак не влияет на свойства антитела, за исключением его специфичности к антигенам.

Все легкие и тяжелые цепи состоят из ряда Ig-доменов — β -листных структур, построенных приблизительно из 110 аминокислот. Легкая цепь имеет в своем составе один переменный (V_L) и один константный (C_L) домены, тогда как тяжелая цепь — один переменный (V_H) и три или четыре константных (C_H) домена. Изменчивость последовательности аминокислот в переменных доменах и легких, и тяжелых цепей сосредоточена в нескольких маленьких гиперпеременных областях, которые, выпячиваясь на одном из концов этих доменов в виде петель, образуют участок связывания антигена.

25.3. Происхождение разнообразия антител

Даже в отсутствие стимуляции антигеном, у человека может, по имеющимся оценкам, вырабатываться более 10^{12} различных молекул антител, которые составляют его преиммунный, или **первичный, репертуар антител**. Первичный репертуар состоит из антител IgM и IgD и, очевидно, достаточно велик для того, чтобы в нем всегда нашелся подходящий участок связывания антигена для почти любой потенциально возможной антигенной детерминанты (хотя бы и с низким сродством). (Антигенсвязывающие участки многих антител могут перекрестно реагировать со множеством близких, но различающихся антигенных детерминант, благодаря чему такой первичный защитный арсенал антител становится еще более внушительным.)

После стимуляции антигеном (и Т-хелперами) В-клетки могут переключиться с синтеза IgM и IgD на создание антител других классов — этот процесс получил название *переключения класса*. Вдобавок к этому, с течением времени сродство антител к своему антигену постепенно усиливается — этот процесс был назван *«созреванием аффинности»*. Таким образом, стимуляция антигеном порождает **вторичный репертуар антител**, обладающий сильно возросшим разнообразием и классов Ig, и участков связывания антигена.

Как известно, антитела — это белки, а белки кодируются генами. Поэтому разнообразие антител ставит перед генетикой трудный вопрос: каким образом животное может вырабатывать больше антител, чем имеется генов в его геноме? (Например, в геноме человека обнаружено лишь около 25 000 генов.) Однако этот парадокс не столь уж трудноразрешим, как может показаться на первый взгляд. Вспомним, что переменные области легких и тяжелых цепей антител обычно сочетаются между собой, когда образуют участок связывания антигена. Таким образом, у животного с, положим, 1 000 генов, кодирующих легкие цепи, и 1 000 генов, кодирующих тяжелые цепи, продукты этих генов, в принципе, могли бы образовывать миллион ($1\,000 \cdot 1\,000$) различных комбинаций, т.е. 10^6 различных участков связывания антигена (хотя в действительности при формировании участка связывания антигена не любая легкая цепь может сочетаться с любой тяжелой цепью). Тем не менее, совершенно очевидно, что в ходе эволюции появились уникальные генетические механизмы, позволяющие системе приобретенного иммунитета порождать практически неограниченное число различных легких и тяжелых цепей на удивление экономичным способом.

Не все представители позвоночных используют одинаковые генетические механизмы разнообразия своих антител, есть существенные различия даже в механизмах, применяемых разными представителями млекопитающих. Мы рассмотрим используемые мышью и человеком механизмы, позволяющие приумножить разнообразие антител в два этапа. В первую очередь, еще до стимуляции антигеном, в развивающихся В-клетках отдельные *генные сегменты* в составе клеточной ДНК соединяются между собой, с тем чтобы получить гены, кодирующие первичный репертуар низкоаффинных антител IgM и IgD. Во-вторых, уже после стимуляции антигеном, скомпонованные гены, кодирующие антитела, могут подвергнуться двум дальнейшим изменениям — мутациям, которые могут увеличить сродство антигенсвязывающего участка к лиганду, и перестройкам ДНК, которые переключают класс вырабатываемых антител. Сочетание этих изменений позволяет получить вторичный репертуар высокоаффинных антител IgG, IgA и IgE.

Этот раздел мы начнем с обсуждения механизмов, используемых В-клетками для создания первичного репертуара антител, и завершим рассуждениями о механизмах, к которым они прибегают для получения вторичного репертуара.

25.3.1. В процессе развития В-клеток происходит сборка генов антител из отдельных генных сегментов

У человека и мыши первичный репертуар антител производится за счет сборки генов антител из отдельных **генных сегментов** в процессе развития В-клеток. Каждый тип цепей антител — легкие κ -цепи, легкие λ -цепи и тяжелые цепи — кодируется отдельным локусом на отдельной хромосоме. Каждый локус содержит большое число генных сегментов, кодирующих V-область полипептидной цепи антитела, и один или несколько генных сегментов, кодирующих C-область. В процессе развития В-клетки в костном мозге (или печени плода) происходит сборка (путем сайт-специфической генетической рекомбинации, которую мы обсуждали в главе 5) полной кодирующей последовательности каждой из двух цепей антитела, которые предстоит синтезировать. Вдобавок к соединению отдельных сегментов гена в последовательность гена антитела, такие перестройки также активируют транскрипцию с промотора гена (за счет изменения относительных положений воздействующих на этот ген энхансеров и сайленсеров). Таким образом, полноценная цепь антитела может быть синтезирована лишь после того, как произойдет перестройка ДНК.

V-область легкой цепи кодируется последовательностью ДНК, собираемой из двух генных сегментов — длинного **V-сегмента** и короткого *соединительного (joining)*, или **J-сегмента** (не путать с белковой *J-цепью* (см. рис. 25.23), которая закодирована в совершенно ином месте генома). На **рис. 25.36** представлена череда событий, протекающих в ходе синтеза полипептида легкой κ -цепи человека из отдельных генных сегментов. V-область любой тяжелой цепи аналогичным образом составляется посредством комбинации генных сегментов, но здесь фигурирует дополнительный сегмент — *сегмент разнообразия (diversity)*, или **D-сегмент** (**рис. 25.37**).

В значительной мере разнообразие антител обусловлено большим числом наследуемых V-, J- и D-сегментов, кодирующих цепи антител, а комбинирование этих сегментов (так называемое *комбинационное разнообразие*) намного увеличивает эту меру. К примеру, любой из 40 V-сегментов в локусе легкой κ -цепи человека может быть соединен с любым из 5 J-сегментов (см. рис. 25.36), так что этот локус может кодировать по крайней мере 200 (40•5) различных V-областей κ -цепи. Точно так же, любой из 40 V-сегментов в локусе тяжелой цепи человека может быть соединен

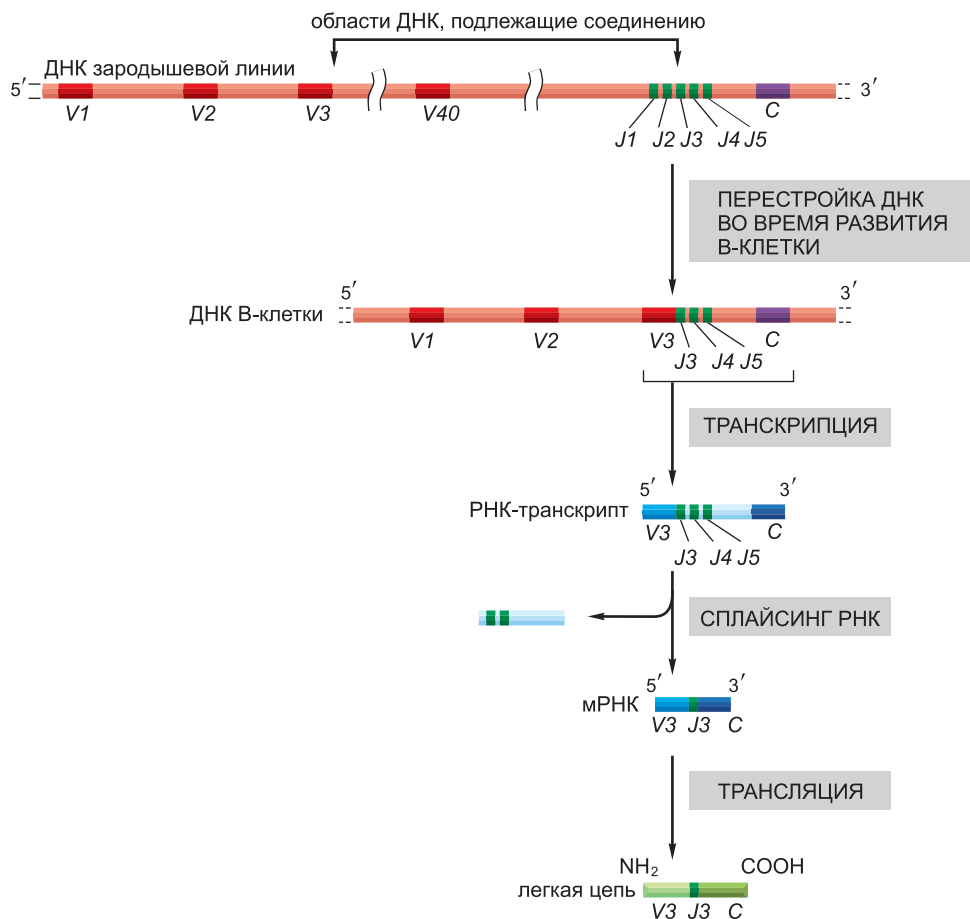


Рис. 25.36. Процесс соединения V–J как необходимое звено в ходе синтеза легкой κ-цепи человека. В ДНК «зародышевой линии» (где гены антител не перестроены и поэтому не экспрессируются) кластер из пяти J-генных сегментов отделен от кодирующей последовательности С-области коротким интроном, а от 40 V-генных сегментов — тысячами пар нуклеотидов. В ходе развития В-клетки выбранный наугад V-генный сегмент (в данном случае V3) перемещается и располагается в точности рядом с одним из J-генных сегментов (в данном случае J3). «Лишние» J-генные сегменты (J4 и J5) и последовательность интрона транскрибируются (наряду с соединенными V3 и J3 сегментами гена и с кодирующей последовательностью С-области) и затем удаляются в ходе сплайсинга РНК, в результате чего образуются молекулы мРНК с примыкающими друг к другу V3, J3 сегментами гена и кодирующей последовательностью С-области, как показано на рисунке. Далее такие молекулы мРНК транслируются в легкие κ-цепи. J-генный сегмент кодирует 15 или около того С-концевых аминокислот V-области, а короткая последовательность, содержащая участок соединения V- и J-сегментов, кодирует третью гипервариабельную область легкой цепи, которая является наиболее изменчивой частью V-области.

с любым из 25 D-сегментов и с любым из 6 J-сегментов, так что этот локус может кодировать по крайней мере 6 000 (40×25×6) различных V-областей тяжелой цепи.

Комбинационное разнообразие, вытекающее из сборки наследуемых V-, J- и D-генных сегментов в различных сочетаниях, служит важным механизмом обеспечения разнообразия антигенсвязывающих участков антител. Один лишь этот

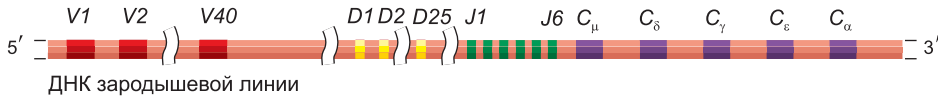


Рис. 25.37. Локус тяжелой цепи человека. Существует 40 V-сегментов, 25 D-сегментов, 6 J-сегментов и упорядоченный кластер кодирующих последовательностей C-области, при этом каждый кластер кодирует тяжелые цепи определенного класса. D-сегмент (и часть J-сегмента) кодирует аминокислоты третьей гипервариабельной области, которая является наиболее изменчивой частью V-области тяжелой цепи. В образовании тяжелых цепей задействованы те же генетические механизмы, что и в образовании легких цепей (как показано на рис. 25.36), за исключением того, что в данном случае требуется не один, а два этапа перестройки ДНК. Сначала D-сегмент соединяется с J-сегментом, а затем V-сегмент соединяется с перестроенным DJ-сегментом. Единый масштаб на рисунке не выдержан, многие детали опущены: например, полная длина локуса тяжелой цепи составляет более 2 млн п. н.

механизм, получивший название *V(D)J-рекомбинации*, дает возможность человеку производить 320 различных V_L -областей (200 к и 120 λ) и 6 000 различных V_H -областей. Дальнейшее их сочетание между собой позволяет организму создавать приблизительно $1,9 \cdot 10^6$ ($320 \cdot 6\,000$) различных участков связывания антигена. Вдобавок сам по себе механизм соединения, как мы увидим чуть позже, намного увеличивает данное число комбинаций (по всей вероятности, более чем в 10^8 раз), в силу чего первичный репертуар антител намного превышает общее число В-клеток у человека (приблизительно 10^{12}).

25.3.2. Неточное соединение генных сегментов существенно увеличивает разнообразие V-областей

В ходе **V(D)J-рекомбинации** отдельные генные сегменты антитела соединяются посредством сайт-специфической рекомбинации, в результате чего образуется функциональная последовательность, кодирующая V_L - или V_H -области. Каждый генный сегмент фланкирован консервативными *последовательностями рекомбинационных сигналов*, которые служат участками узнавания для процесса соединения, гарантирующими, что в рекомбинации примут участие лишь надлежащие генные сегменты. Так, например, V-сегмент легкой цепи всегда будет соединяться с J-сегментом и никогда с другим V-сегментом. Такого рода соединение осуществляется ферментным комплексом, называемым *V(D)J-рекомбиназой*. Этот комплекс содержит два белка, специфичных для развивающихся лимфоцитов, а также ферменты, помогающие репарировать поврежденную ДНК во всех наших клетках.

Два сцепленных гена *Rag1* и *Rag2* (*Rag* = *recombination activating genes*, активирующие рекомбинацию гены) кодируют специфичные для лимфоцитов белки V(D)J-рекомбиназы: RAG1 и RAG2. Чтобы осуществить V(D)J-соединение, эти два белка объединяются, образуя комплекс (названный **RAG**), который выполняет роль эндонуклеазы, внося двунитевые разрывы точно между генными сегментами, которые нужно соединить, и примыкающими к ним последовательностями рекомбинационных сигналов. После этого комплекс RAG начинает сам процесс соединения, привлекая ферменты, участвующие во всех клетках в устранении двунитевых разрывов ДНК (рис. 25.38). Мыши или люди с дефектами в одном из генов *Rag* или со сбоями в механизме соединения фрагментов с негомологичными концами сильно восприимчивы к инфекции, потому что неспособны осуществлять V(D)J-рекомбинацию и, следовательно, не имеют функционально активных В- или

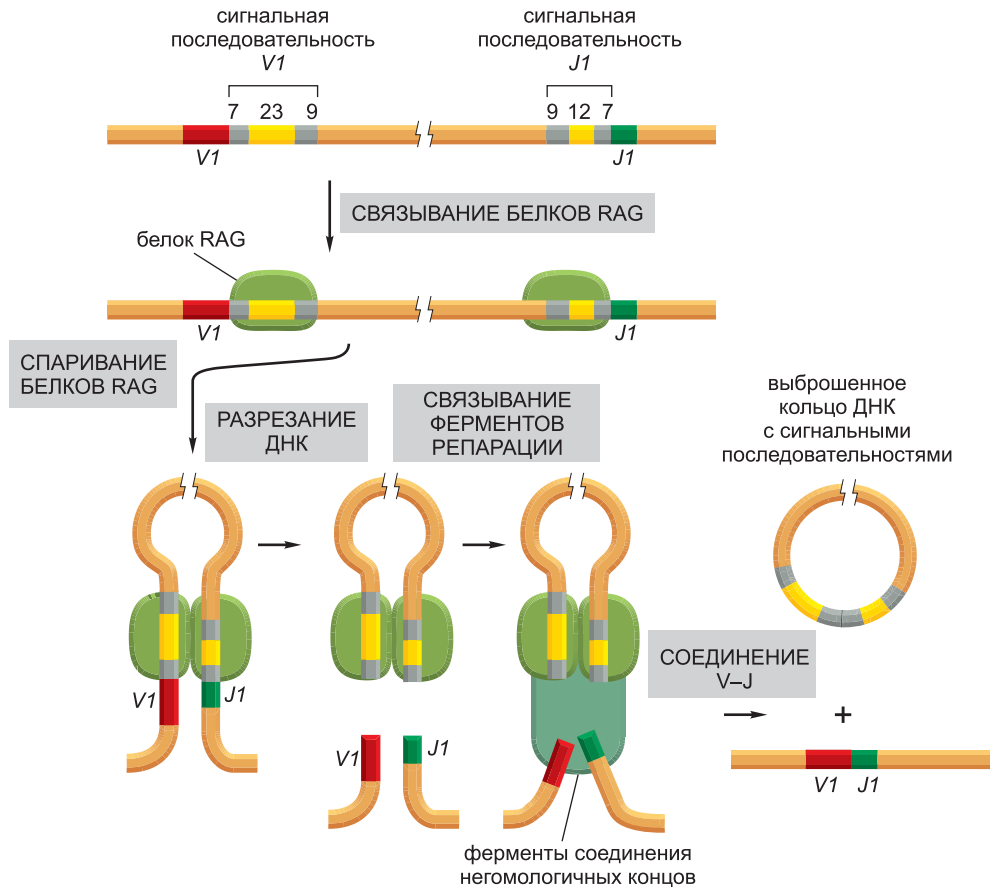


Рис. 25.38. Роль последовательностей рекомбинационных сигналов в опосредованном RAG соединении генных сегментов. В представленном на рисунке примере сегмент V1 соединяется с сегментом J1 в локусе легкой цепи. В V(D)J-рекомбинации участвуют сигнальные последовательности ДНК двух типов, и рекомбинация может происходить только между последовательностями разных типов. Сигналы обоих типов состоят из одинаковых участков 7 и 9 пар нуклеотидов (п. н.) длиной, разделенных спейсером; в одном случае длина спейсера 12 п. н., а в другом — 23 п. н., как показано на рисунке. Когда один из белков RAG связывается со спейсером 12 п. н. длиной, другой связывается со спейсером 23 п. н. длиной, после чего эти два белка RAG связываются друг с другом, так что две разные сигнальные последовательности совмещаются. Тогда комплекс RAG разрезает обе сигнальные последовательности по границе их одинаковых участков 7 п. н. длиной, и ферменты ДНК репарации соединяют находящиеся на краю отреза V1- и J1-сегменты друг с другом. Сигнальные последовательности тоже соединяются между собой и отбрасываются в виде маленького кольца ДНК, которое содержит всю ДНК, ранее располагавшуюся между сегментами V1 и J1. Тот же процесс и такие же сигнальные последовательности используются и в ходе соединения V-, D- и J-генных сегментов в локусе тяжелой цепи. Расположение сигнальных последовательностей и только что описанное «правило 12/23» гарантируют участие в рекомбинации только надлежащих генных сегментов.

T-клеток; такое состояние называют *тяжелым комбинированным иммунодефицитом (ТКИД) (severe combined immunodeficiency, SCID)*. (Как мы увидим в дальнейшем, T-клетки используют ту же V(D)J-рекомбиназу, чтобы собирать генные сегменты, кодирующие их антигенспецифичные рецепторы.)

Во время соединения генных сегментов антитела (и рецептора Т-клеток), как и при соединении фрагментов с негомологичными концами (см. рис. 5.51, *a*), нередко на концах рекомбинирующих генных сегментов теряется то или иное число нуклеотидов и, кроме того, может произойти вставка одного или нескольких случайных нуклеотидов. Такого рода случайные выпадения или вставки нуклеотидов на участках соединения сегментов (так называемое **соединительное разнообразие**) чрезвычайно увеличивает разнообразие кодирующих V-область последовательностей, образующихся путем V(D)J-рекомбинации, в особенности в третьей гипервариабельной области. Однако за увеличение разнообразия приходится платить свою цену. Во многих случаях оно приводит к сдвигу рамки считывания и к образованию неработающего гена. Поскольку примерно две из каждых трех перестроек оказываются по этой причине «непродуктивными», многие развивающиеся В-клетки никогда не вырабатывают функционально активных молекул антител и впоследствии умирают в костном мозге.

В-клетки, вырабатывающие функционально активные молекулы антитела, которые сильно связываются с аутоантигенами в костном мозге, могут быть опасны. В таких В-клетках сохраняется экспрессия белков RAG, что позволяет им войти во второй круг V(D)J-рекомбинации в локусе легкой цепи (обычно это κ-локус) и изменить тем самым специфичность вырабатываемого ими антитела клеточной поверхности; этот процесс был назван **редактированием рецептора**. В качестве следующего уровня защиты служит механизм клональной делеции, с помощью которого устраняются те аутореактивные В-клетки, которые оказались не в состоянии изменить свою специфичность (см. рис. 25.13).

25.3.3. Контроль V(D)J-рекомбинации гарантирует моноспецифичность В-клеток

В-клетки *моноспецифичны*. То есть все антитела, вырабатываемые отдельной В-клеткой, имеют идентичные участки связывания антигена. Эта особенность позволяет антителам образовывать обширные сети из связанных антигенов, что способствует элиминации антигена (см. рис. 25.19). Это также означает, что всякая активированная В-клетка выделяет антитела той же специфичности, что и ее мембраносвязанные рецепторы, а это гарантирует специфичность реакций антителогенеза (гуморального ответа) (см. рис. 25.17).

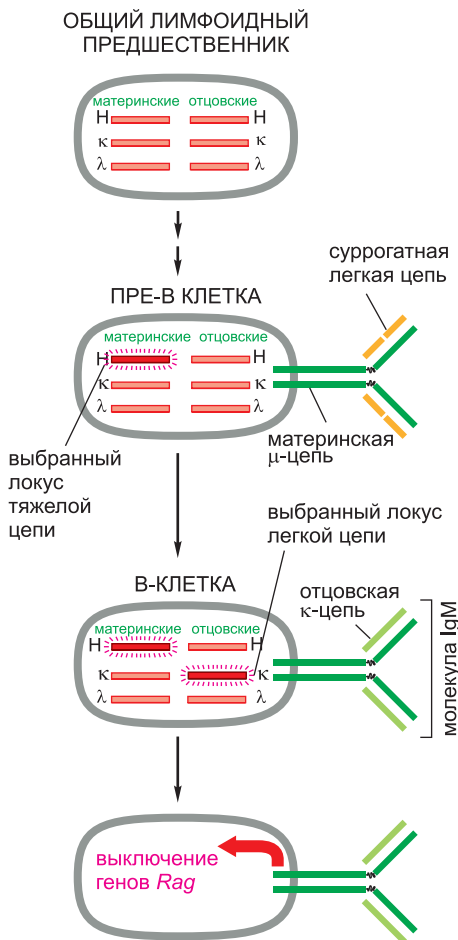
Чтобы достичь моноспецифичности, каждая отдельно взятая В-клетка должна синтезировать V_L -области только одного типа и V_H -области только одного типа. Поскольку В-клетки, подобно другим соматическим клеткам, диплоидны, каждая из них имеет шесть локусов, кодирующих цепи антител: два локуса тяжелых цепей (по одному от каждого родителя) и четыре локуса легких цепей (по одному κ и одному λ от каждого родителя). Таким образом, если бы перестройки ДНК в каждом локусе тяжелых цепей и каждом локусе легких цепей происходили независимо, то отдельная В-клетка могла бы вырабатывать до восьми различных антител, и каждое со своим участком связывания антигена.

Однако в действительности В-клетки используют только два из шести локусов антител: один из двух локусов тяжелых цепей и один из четырех локусов легких цепей. Таким образом, каждая В-клетка должна выбирать не только между локусами легких κ- и λ-цепей, но также и между материнскими и отцовскими локусами легких и тяжелых цепей. Этот второй выбор называют **аллельным исключением**. Аллельное исключение происходит также и при экспрессии некоторых генов, ко-

дирующих рецепторы Т-клеток, и генов, кодирующих обонятельные рецепторы в носу (обсуждалось в главе 15). Однако для большинства белков, кодируемых аутосомными генами, и материнские, и отцовские копии генов экспрессируются примерно одинаково.

Аллельное исключение и выбор между легкой κ- и λ-цепью, происходящие в ходе развития В-клетки, зависят от регуляции процесса V(D)J-рекомбинации посредством отрицательной обратной связи. Функциональная перестройка в одном локусе антитела подавляет перестройки во всех остальных локусах, кодирующих цепь антитела того же типа (рис. 25.39). Например, в клонах В-клеток, выделенных из трансгенных мышей, экспрессирующих перестроенный ген μ-цепи, перестройка всех эндогенных генов тяжелой цепи обычно оказывается подавленной. Для легких

Рис. 25.39. Выбор локусов антител в процессе развития В-клетки в костном мозге. Для того чтобы производить антитела с антигенсвязывающими участками только одного типа, развивающаяся В-клетка должна использовать лишь один локус L-цепи и лишь один локус H-цепи. Хотя выбор между материнскими и отцовскими локусами считается случайным, сборка кодирующих последовательностей V-области в развивающейся В-клетке протекает последовательно, по одному сегменту за раз, обычно начиная с локуса H-цепи. В этом локусе сначала D-сегменты соединяются с J_H-сегментами на обеих родительских хромосомах, а затем на одной из этих хромосом происходит соединение сегмента V_H со цепкой DJ_H (не показано). Если такая перестройка дает функционально активный ген, то затем синтезируются полные μ-цепи (всегда синтезируются первыми из всех H-цепи), что ведет к их экспрессии на поверхности клетки в комплексе с суррогатными легкими цепями (см. рис. 25.22). После этого клетка прекращает все дальнейшие перестройки кодирующих V_H-область генных сегментов и инициирует перестройку сегментов V_L. Обычно перестройка сегментов V_L сначала происходит в κ-локусе, и только в случае неудачи она происходит в другом κ-локусе или в λ-локусе. В любой момент, если «синфазное» соединение сегментов V_L и J_L дает полноценные легкие цепи, они сочетаются с ранее синтезированными μ-цепями и образуют молекулы антител IgM, которые встраиваются в плазматическую мембрану. Полагают, что IgM рецепторы на клеточной поверхности позволяют новоявленной В-клетке получать внеклеточные сигналы, которые останавливают всякую дальнейшую V(D)J-рекомбинацию, выключая экспрессию генов *Rag1* и *Rag2*.



Если такая перестройка дает функционально активный ген, то затем синтезируются полные μ-цепи (всегда синтезируются первыми из всех H-цепи), что ведет к их экспрессии на поверхности клетки в комплексе с суррогатными легкими цепями (см. рис. 25.22). После этого клетка прекращает все дальнейшие перестройки кодирующих V_H-область генных сегментов и инициирует перестройку сегментов V_L. Обычно перестройка сегментов V_L сначала происходит в κ-локусе, и только в случае неудачи она происходит в другом κ-локусе или в λ-локусе. В любой момент, если «синфазное» соединение сегментов V_L и J_L дает полноценные легкие цепи, они сочетаются с ранее синтезированными μ-цепями и образуют молекулы антител IgM, которые встраиваются в плазматическую мембрану. Полагают, что IgM рецепторы на клеточной поверхности позволяют новоявленной В-клетке получать внеклеточные сигналы, которые останавливают всякую дальнейшую V(D)J-рекомбинацию, выключая экспрессию генов *Rag1* и *Rag2*.

Если развивающаяся В-клетка создает рецептор с высоким сродством к аутоантигену, то экспрессия гена *Rag* поддерживается и клетка входит в очередной круг V(D)J-рекомбинации в локусе легкой цепи (так называемое редактирование рецептора — см. рис. 25.13) и изменяет тем самым специфичность своего рецептора (не показано). Если же клетка оказывается не в состоянии собрать ни функционально активную кодирующую последовательность V_H-области, ни нормально функционирующую последовательность V_L-области, то она не способна синтезировать молекулы антител и умирает от апоптоза (не показано).

цепей были получены аналогичные результаты. Если продукт перестроенного гена не в состоянии собраться в рецептор, встраиваемый в плазматическую мембрану, то подавления не происходит. Исходя из этого было высказано предположение о том, что или сам процесс сборки рецептора, или внеклеточные сигналы, воздействующие на этот рецептор, подавляют дальнейшие перестройки генов.

Хотя никаких биологических различий между константными областями легких κ - и λ -цепей обнаружено не было, в наличии двух отдельных локусов, кодирующих переменные области легких цепей, есть определенное преимущество. Наличие двух отдельных локусов увеличивает вероятность того, что пре-В-клетка, которая успешно собрала кодирующую последовательность V_H -области, сможет затем успешно собрать кодирующую последовательность V_L -области и стать В-клеткой. Эта вероятность еще более увеличивается потому, что, прежде чем построить обычные легкие цепи, развивающаяся пре-В-клетка синтезирует суррогатные легкие цепи (см. рис. 25.22), которые объединяются с тяжелыми μ -цепями. Получающиеся рецепторы выставляются на поверхности клетки и позволяют ей делиться, порождая большое число клеток-потомков, часть из которых может (и, скорее всего, так оно и будет) преуспеть в деле синтеза истинных легких цепей.

Образование полноценной В-клетки — сложный и весьма избирательный процесс: в конце его все В-клетки, неспособные вырабатывать полноценные молекулы антител, умирают апоптозом.

Теперь мы отойдем от механизмов, отвечающих за порождение первичного репертуара антител до стимуляции антигеном, и обратимся к механизмам, отвечающим за создание вторичного репертуара антител после стимуляции антигеном. Мы начнем с замечательного механизма, подобного дарвиновскому и отвечающего за увеличение сродства антигенсвязывающих участков антител к специфичному для них антигену.

25.3.4. Антигензависимое соматическое гипермутирование осуществляет тонкую настройку гуморального ответа

Как было упомянуто ранее, с течением времени после иммунизации обычно наблюдается постепенное увеличение сродства антител к тому антигену, которым проводилась иммунизация. Это явление, известное как **созревание аффинности**, обусловлено накоплением точечных мутаций в последовательностях, кодирующих V-области тяжелой и легкой цепей. Мутации происходят намного позже сборки кодирующих областей. После того как В-клетки были простимулированы антигеном и Т-хелперами в периферическом лимфоидном органе, некоторые из активированных В-клеток быстро делятся в лимфоидных фолликулах (см. рис. 25.16) и образуют структуры, называемые *зародышевыми центрами*. Здесь В-клетки мутируют со скоростью приблизительно одна мутация на кодирующую последовательность V-области за одну клеточную генерацию. Поскольку такая скорость приблизительно в миллион раз выше, чем скорость спонтанного мутирования в других генах, и происходит в соматических клетках, а не в зародышевых клетках (о чем было сказано в главе 21), этот процесс называют **соматическим гипермутированием**.

Из числа видоизмененных антител, образовавшихся за счет гипермутирования, лишь совсем немногие будут обладать повышенным сродством к антигену. Поскольку с тех же самых генов антитела продуцируются рецепторы антигена на поверхности В-клетки, антиген будет стимулировать предпочтительно те немногие В-клетки, которые вырабатывают антитела с повышенным сродством к нему. Клоны таких

видоизмененных В-клеток будут преимущественно продолжать жить и разрастаться, особенно на поздней стадии иммунного ответа, когда количество стимулирующего антигена снижается до очень низкого уровня. Большинство же других В-клеток в зародышевом центре умрет апоптозом. Таким образом, в результате повторяющихся циклов соматического гипермутирования, за которыми следует антигензависимая пролиферация избранных клонов эффекторных В-клеток и В-клеток памяти, в ходе иммунного ответа начинают преобладать все более и более высокоаффинные антитела, что обеспечивает постепенно улучшающуюся защиту от патогена. (У некоторых млекопитающих, включая овец и коров, подобное соматическое гипермутирование играет главную роль также и в увеличении разнообразия первичного репертуара антител — еще до того как В-клетки встретятся со своим антигеном.)

Мощным скачком вперед в понимании молекулярного механизма соматического гипермутирования послужило выявление фермента, необходимого для протекания этого процесса. Его назвали **дезаминазой, индуцируемой активацией (AID, activation-induced deaminase)**, потому что он экспрессируется избирательно в активированных В-клетках и дезаминирует цитозин (С) до урацила (U) в транскрибируемой ДНК, кодирующей V-область. Дезаминирование создает некоплементарную пару U:G в двойной спирали ДНК, а устранение таких повреждений порождает мутации различного типа в зависимости от способа репарации ДНК (рис. 25.40). Соматическое гипермутирование затрагивает лишь активно транскрибируемые последовательности, кодирующие V-области, возможно, по той причине, что фер-

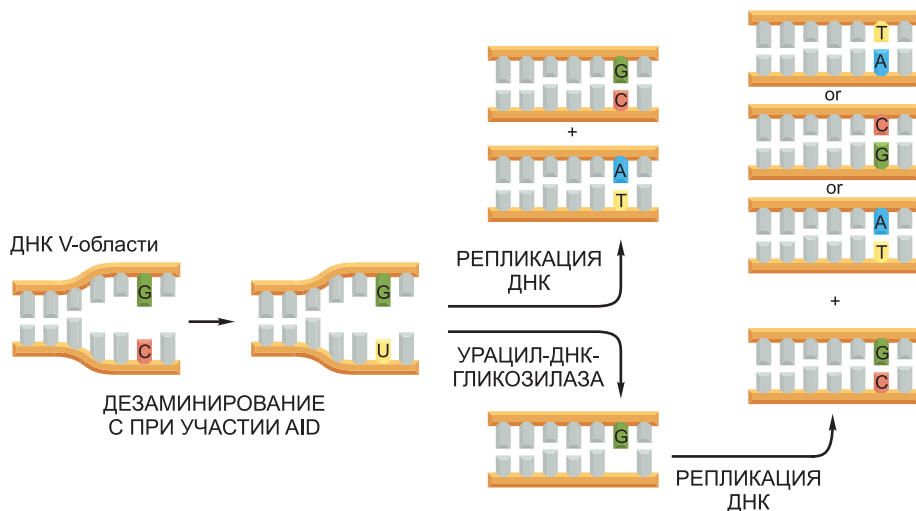


Рис. 25.40. Некоторые способы, которыми AID вносит мутации в процессе соматического гипермутирования. AID дезаминирует некоторые цитозины до урацила в транскрибируемой ДНК, кодирующей V-области, и создает некоплементарные пары U:G, которые приводят к дальнейшим различным мутациям. Одни мутации возникают при репликации участков ДНК, содержащих неисправленные некоплементарные пары U:G (см. рис. 5.49, а). Другие происходят, когда до репликации ДНК урацил удаляется урацил-ДНК-гликозилазой, поскольку в результате этого на одной из матричных нитей ДНК появляется позиция, в которой отсутствует основание для копирования ДНК-полимеразой. Мутации еще одного типа (не показаны) происходят, когда система репарации неправильных пар оснований (разобранная нами в главе 5) вырезает область вокруг некоплементарной пары U:G и тем самым создает брешь, которая может быть устранена лишь допускающими ошибки ДНК-полимеразами, в результате чего возникают мутации в парах A:T и C:G.

мент AID осуществляет специфичную посадку на РНК-транскрипты (обсуждалось в главе 7). AID бывает необходим также и тогда, когда активированные В-клетки переключаются с производства IgM на производство антител других классов, о чем мы сейчас и поговорим подробнее.

25.3.5. В-клетки имеют возможность переключаться с выработки одного класса антител на выработку другого

Как мы могли убедиться ранее, все В-клетки начинают свою деятельность по синтезу антител с выработки молекул IgM и внедрения их в плазматическую мембрану в качестве рецепторов антигена. После того как В-клетки покинут костный мозг, но прежде взаимодействия с антигеном, они начинают производить молекулы антител IgM (а вдобавок и IgD) в виде мембраносвязанных рецепторов антигена, причем с одинаковыми участками связывания антигена (см. рис. 25.22). Стимуляция антигеном и Т-хелперами приводит к активации многих из этих клеток, так что те превращаются в IgM-секретирующие эффекторные клетки, вследствие чего антитела IgM доминируют в первичном гуморальном ответе. Однако на более поздних этапах иммунного ответа, когда активированные В-клетки претерпевают соматическое гипермутирование, совместное действие антигена и выпускаемых Т-хелперами цитокинов стимулирует многие из В-клеток на переключение с выработки мембраносвязанных антител IgM и IgD на выработку антител IgG, IgA или IgE; этот процесс получил название **переключения класса**. Некоторые из этих клеток становятся клетками памяти и экспрессируют на своей поверхности молекулы антител соответствующего класса, в то время как другие становятся эффекторными клетками и выделяют эти антитела в кровотоки. Вообще, молекулы антител IgG, IgA и IgE относят к антителам *вторичных классов*, потому что они вырабатываются только после стимуляции антигеном, доминируют во вторичных гуморальных ответах и составляют вторичный репертуар антител. Как мы видели ранее, каждый отдельный класс антител специализирован на поражении патогена своим способом и в своем участке организма.

Класс антител определяется константной областью их тяжелой цепи. Таким образом, способность В-клеток изменять класс вырабатываемых ими антител без изменения участка связывания антигена подразумевает, что одна и та же собранная последовательность, кодирующая V_H -область (которая определяет антигенсвязывающую часть тяжелой цепи), может в разное время ассоциировать с различными последовательностями, кодирующими C_H -область. Эта способность В-клеток имеет важный функциональный смысл. Это означает, что конкретный участок связывания антигена, отобранный антигенами окружающей среды, может у данной особи быть распространен между всеми классами антител и тем самым приобрести различные биологические свойства, присущие каждому из этих классов.

Когда В-клетка переключается с создания антител IgM и IgD на создание антител одного из вторичных классов, происходит необратимое изменение на уровне ДНК — процесс, названный **рекомбинацией на этапе переключения**. Она сопряжена с удалением всех последовательностей, кодирующих C_H -область, между собранной последовательностью, кодирующей VDJ, и последовательностью, кодирующей область C_H , которая предназначена для экспрессии клеткой. Рекомбинация переключения отличается от V(D)J-рекомбинации по нескольким параметрам. 1) Она происходит после стимуляции антигеном (главным образом в зародышевых центрах) и зависит от Т-хелперов. 2) В ней задействованы иные последовательности реком-

бинационных сигналов — так называемые *переключающие последовательности*, которые состоят из коротких мотивов, тандемно повторяющихся на протяжении нескольких тыс. п. н. 3) Она предполагает разрезание и соединение переключающих последовательностей, представленных некодирующими последовательностями, так что кодирующая последовательность не затрагивается (рис. 25.41). 4) Что наиболее важно, она основана на ином молекулярном механизме. Она зависит не от RAG, который отвечает за V(D)J-рекомбинацию, а от AID, который участвует в соматическом гипермутировании.

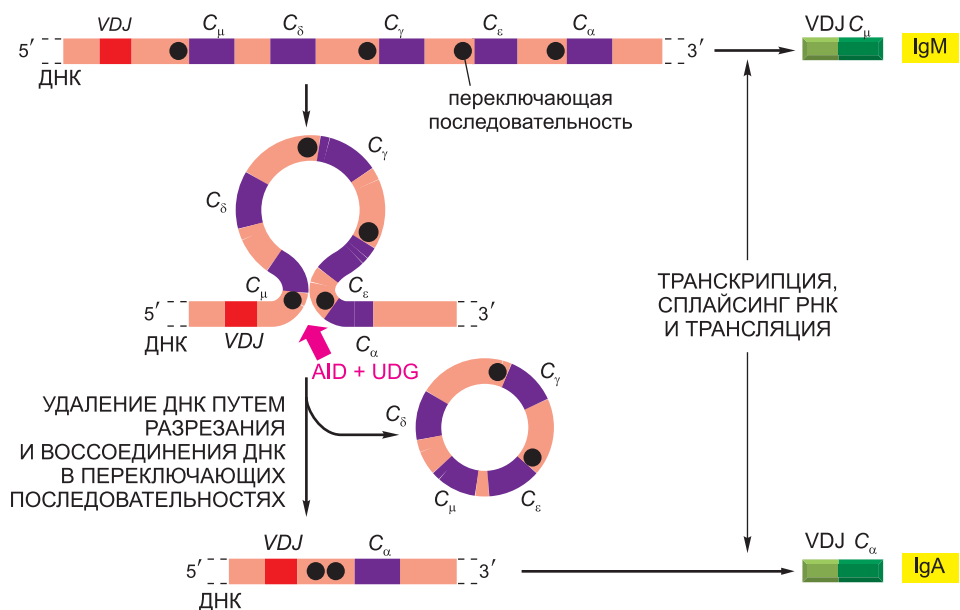
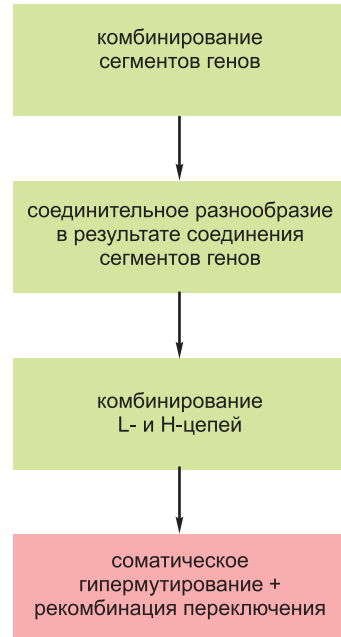


Рис. 25.41. Пример перестройки ДНК, которая происходит при рекомбинации на этапе переключения. В-клетка, производящая антитела IgM на основе собранной последовательности VDJ, стимулируется на переключение к созданию антител IgA. В ходе этого процесса происходит удаление участка ДНК между последовательностью VDJ и последовательностью, кодирующей C_α. Определенные последовательности ДНК (*переключающие последовательности*), расположенные «выше» каждой последовательности, кодирующей C_μ (кроме C_δ), рекомбинируют друг с другом, в результате чего промежуточный участок ДНК удаляется. Как обсуждалось в основном тексте книги, процесс рекомбинации зависит от AID и урацил-ДНК-гликозилазы (УДГ) (uracil-DNA glycosylase, UDG) — тех же ферментов, что участвуют в соматическом гипермутировании (см. рис. 25.40).

Цитокины, активирующие переключение класса, индуцируют производство факторов транскрипции, которые активируют транскрипцию с соответствующих переключающих последовательностей, позволяя AID связаться с этими последовательностями. Связавшись с ними, AID начинает рекомбинацию на этапе переключения, дезаминируя некоторые цитозины до урацила в окрестности этих переключающих последовательностей. Полагают, что вырезание этих урацилов урацил-ДНК-гликозилазой (см. рис. 25.40) приводит так или иначе к появлению двунитевых разрывов в задействованных переключающих областях, которые затем воссоединяются с помощью механизма соединения негомологичных концов (обсуждался в главе 5).

Рис. 25.42. Основные механизмы увеличения разнообразия антител у мыши и человека. Механизмы, выделенные *зеленым*, функционируют в ходе развития В-клетки в костном мозге (или в печени плода), тогда как механизмы, выделенные *красным*, работают тогда, когда В-клетки стимулируются чужеродным антигеном и Т-хелперами в периферических лимфоидных органах — или на поздней стадии первичного ответа, или во вторичном ответе.



Таким образом, если первичный репертуар антител у мыши и человека создается за счет V(D)J-рекомбинации, опосредуемой RAG, то вторичный репертуар антител набирается за счет соматического гипермутирования и рекомбинации на этапе переключения, причем оба этих процесса осуществляет AID. Основные механизмы увеличения разнообразия антител, которые мы обсудили в этой главе, приведены на **рис. 25.42**.

Заключение

Антитела кодируются тремя локусами, находящимися на разных хромосомах, каждый из которых задает полипептидную цепь определенного типа. Один кодирует легкие κ-цепи, другой — легкие λ-цепи, а третий — тяжелые цепи. Каждый локус антитела состоит из отдельных генных сегментов, кодирующих разные части вариабельной области соответствующей цепи антитела. Локус легкой цепи содержит одну или несколько последовательностей, кодирующих константную (C) область, и наборы вариабельных (V) и соединительных (J) генных сегментов. Локус тяжелой цепи содержит набор последовательностей, кодирующих C-область, а также наборы V-, D- (разнообразия) и J-генных сегментов.

В процессе развития В-клетки в костном мозге (или в печени плода) и до стимуляции антигеном отдельные генные сегменты соединяются между собой путем сайт-специфической рекомбинации, осуществляемой комплексом RAG. V_L -генный сегмент рекомбинирует с J_L -генным сегментом с образованием последовательности ДНК, кодирующей V-область легкой цепи, а V_H -генный сегмент рекомбинирует с D- и J_H -генными сегментами с образованием последовательности ДНК, кодирующей V-область тяжелой цепи. Затем каждая из собранных последовательностей, кодирующих V-область, котранскрибируется с соответствующей последовательностью C-области, так что получается молекула РНК, кодирующая полную полипептидную цепь. Как только В-клетка производит функционально активные тяжелые и легкие цепи, образующие участки связывания антигена (которые не имеют высокого сродства к аутоантигену), она выключает процесс V(D)J-рекомбинации, тем самым гарантируя выработку только одной разновидности участка связывания антигена.

Происходящие в процессе развития В-клеток рекомбинационные процессы между унаследованными генными сегментами, кодирующими V_L - и V_H -области, приводят к тому, что в организме человека вырабатываются сотни различных легких цепей и тысячи различных тяжелых цепей. Поскольку участок связывания антигена образуется в месте схождения гипервариабельных петель

V_L - и V_H -областей в конечной структуре антитела, тяжелые и легкие цепи могут объединяться с образованием миллиона различных участков связывания антигена. Это число еще больше увеличивается в результате потери и вставки нуклеотидов на участке соединения генных сегментов. Такие антитела, создаваемые до стимуляции антигеном с помощью опосредуемой RAG V(D) J-рекомбинации, представлены низкоаффинными антителами IgM и IgD и составляют первичный репертуар антител.

После стимуляции антигеном в периферических лимфоидных органах порождается еще большее разнообразие антител за счет зависимых от AID и T-хелперов процессов соматического гипермутирования и рекомбинации на этапе переключения, в результате чего образуются антитела IgG, IgA и IgE высокого сродства, которые составляют вторичный репертуар антител. Переключение класса позволяет включать один и тот же участок связывания антигена в антитела с различными биологическими свойствами.

25.4. Т-клетки и белки МНС

Подобно гуморальному ответу, опосредуемые Т-клетками иммунные реакции (клеточный ответ) крайне специфичны по отношению к антигену и по крайней мере так же важны для защиты позвоночных животных от инфекции, как и антитела. И в самом деле, для инициации большинства реакций приобретенного иммунитета, включая и львиную долю реакций, связанных с продукцией антител, необходимы Т-хелперы. Что наиболее важно, в отличие от В-клеток, Т-клетки способны содействовать уничтожению внутриклеточных патогенов, которые иначе могли бы остаться незамеченными. Оставшаяся часть этой главы в основном посвящена тому, как Т-клетки этого достигают.

Т-клеточные реакции отличаются от В-клеточных реакций по крайней мере двумя ключевыми особенностями. Во-первых, чужеродный антиген активирует пролиферацию и дифференцировку Т-клеток в эффекторные клетки только в том случае, если этот антиген будет представлен на поверхности *антигенпрезентирующих клеток* (обычно это дендритные клетки в периферических органах лимфатической системы). Т-клеткам для активации нужны антигенпрезентирующие клетки потому, что форма антигена, которую они узнают, отличается от таковой, опознаваемой В-клетками. Тогда как В-клетки узнают интактные белковые антигены, Т-клетки опознают фрагменты белковых антигенов, частично разрушенных антигенпрезентирующей клеткой. Специальные белки, называемые *белками МНС* (с ними мы познакомили читателя в главе 24), связываются с пептидными фрагментами и переносят их на поверхность антигенпрезентирующей клетки, где Т-клетки могут опознать их.

Второе отличие состоит в том, что, будучи активированными, эффекторные Т-клетки действуют только на коротких расстояниях — или непосредственно в пределах вторичного органа лимфатической системы, или после миграции в очаг заражения. Эффекторные В-клетки, напротив, выделяют антитела, которые могут действовать вдали от них. Эффекторные Т-клетки непосредственно взаимодействуют с другими клетками организма, которые они либо убивают (как например, в случае зараженной клетки хозяина), либо о чем-то им сигнализируют (как например, в случае В-клетки или макрофага). Такие клетки хозяина мы будем называть *клетками-мишенями*. Однако поскольку, для того чтобы Т-клетка могла опознать такие клетки-мишени,

они должны представить на своей поверхности антиген в связке с белком МНС, их также можно считать антигенпрезентирующими клетками.

Известно три основных класса Т-клеток: цитотоксические Т-клетки (Т-киллеры), Т-хелперы и регуляторные (супрессорные) Т-клетки. Эффекторные *цитотоксические Т-клетки* непосредственно убивают клетки, зараженные вирусом или каким-либо иным внутриклеточным патогеном. Эффекторные *Т-хелперы* помогают стимулировать реакции других клеток — главным образом, макрофагов, дендритных клеток, В-клеток и цитотоксических Т-клеток. Эффекторные *регуляторные Т-клетки* подавляют активность других клеток, в особенности аутореактивных эффекторных Т-клеток.

В этом разделе мы поговорим о трех основных классах и о присущих им функциях. Мы расскажем о том, как они опознают чужеродные антигены на поверхности антигенпрезентирующих клеток и клеток-мишеней, и обсудим ключевую роль белков МНС в процессе опознавания. Наконец, мы опишем процесс отбора Т-клеток в ходе их развития в тимусе, гарантирующий, что только клетки с потенциально полезными рецепторами останутся жить и созреют. Итак, мы начинаем с рассмотрения природы рецепторов на клеточной поверхности, с помощью которых Т-клетки опознают антигены.

25.4.1. Т-клеточные рецепторы (TCR) представляют собой антителоподобные гетеродимеры

Поскольку Т-клеточный ответ зависит от прямого контакта с антигенпрезентирующей клеткой или с клеткой-мишенью, **Т-клеточные рецепторы (T cell receptors, TCR)**, в отличие от вырабатываемых В-клетками антител, существуют только в мембраносвязанной форме и не секретируются. По этой причине TCR было очень трудно выделить в чистом виде, и только в 1980-е гг. исследователи смогли определить их молекулярную структуру. TCR напоминают собою антитела. Они состоят из двух связанных дисульфидными связями полипептидных цепей, каждая из которых содержит два Ig-подобных домена — один вариабельный и один константный (рис. 25.43, а). Более того, посредством рентгеноструктурного анализа была определена трехмерная структура внеклеточной части TCR, которая показала немалое сходство с плечом Y-образной молекулы антитела (рис. 25.43, б).

TCR большинства Т-клеток состоят из одной α -цепи и одной β -цепи. Генетические локусы, кодирующие α - и β -цепи, расположены на разных хромосомах. Подобно локусу тяжелой цепи антител, локусы TCR содержат отдельные V-, D- и J-генные сегменты (или, в случае локуса α -цепи, только V- и J-генные сегменты), которые объединяются посредством сайт-специфической рекомбинации в процессе развития Т-клеток в тимусе. За одним исключением, все механизмы, используемые В-клетками для создания разнообразия антител, используются и Т-клетками для создания разнообразия Т-клеточных рецепторов. В частности, они используют ту же V(D)J-рекомбиназу с рассмотренными нами ранее белками RAG. Единственный механизм, не задействованный для создания разнообразия TCRs, — это механизм соматического гипермутирования, приводимый в действие антигеном. Таким образом, сродство рецепторов, как правило, низкое ($K_a \approx 10^5\text{--}10^7$ литр/моль), хотя Т-клетки с максимальной аффинностью предпочтительно отбираются антигеном в число клеток памяти. Т-клетки могут частично компенсировать свое низкое сродство повышенной avidностью, которая имеет место, когда многочисленные TCR одновременно связываются с многочисленными мембраносвязанными лигандами

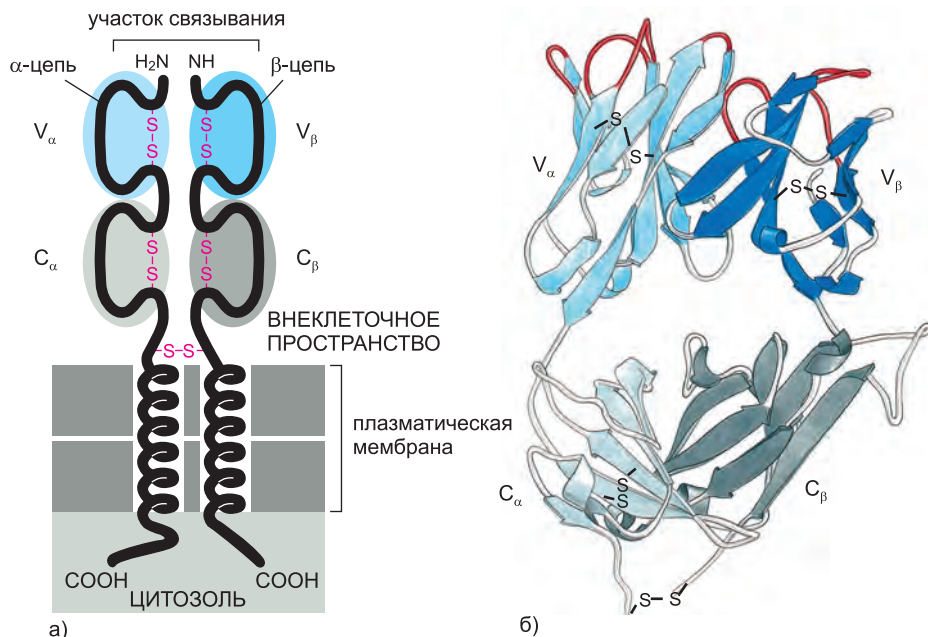


Рис. 25.43. Т-клеточный рецептор (TCR) — гетеродимер. а) На схематичном рисунке показано, что рецептор состоит из полипептидных цепей α- и β. Каждая из цепей около 280-ти аминокислот длиной имеет большую внеклеточную часть, свернутую в два Ig-подобных домена — один варибельный (V) и один константный (C). Участок связывания антигена образован доменами V_α и V_β (выделены синим). В отличие от антител, которые имеют два участка связывания антигена, Т-клеточные рецепторы имеют лишь один такой участок. Гетеродимер αβ нековалентно связан с большим набором инвариантных мембраносвязанных белков (не показаны), которые помогают активировать Т-клетку, когда Т-клеточные рецепторы связываются с антигеном. Типичная Т-клетка несет на своей поверхности около 30 000 таких рецепторных комплексов. б) Трехмерная структура внеклеточной части TCR. Участок связывания антигена образован гипервариабельными петлями доменов V_α и V_β (красные) и подобен в общих очертаниях и размерах участку связывания антигена на молекуле антитела. (Изображение б создано на основе К. С. Garcia et al., *Science* 274: 209–219, 1996. С любезного разрешения издательства AAAS.)

(комплексами вида пептид–МНС, которые мы опишем чуть позже). Более того, связывание Т-клетки с антигенпрезентирующей клеткой или с клеткой-мишенью во много раз усиливается различными корецепторами и белками межклеточной адгезии.

Малая доля Т-клеток, вместо синтеза α- и β-цепей, создает рецепторы-гетеродимеры иного, однако же родственного типа, состоящие из γ-цепей и δ-цепей. Хотя такие клетки обычно составляют 5–10% от имеющихся в крови человека Т-клеток, они могут быть преобладающей популяцией Т-клеток в эпителиях (например, в коже и кишечнике). Предназначение этих клеток изучено хуже, чем функции Т-клеток, экспрессирующих TCR с α/β-цепями, а потому мы не будем их касаться в дальнейшем.¹

¹ Показано, что TCR, состоящие из γ- и δ-цепей (γδ TCR), имеют структурное сходство как с αβ-TCR, так и с антителами, т.е. γδ Т-клетки, по-видимому, представляют собой древнейший компонент системы адаптивного иммунитета. Считается, что распознавание антигенов γδ Т-клетками не требует протеолитического процессинга антигена и презентации пептидного фрагмента в комплексе с молекулами

Как и в случае рецепторов антигена на В-клетках, TCR сильно связаны в плазматической мембране с рядом инвариантных мембраносвязанных белков, которые участвуют в передаче сигнала от активированного антигеном рецептора внутрь клетки (см. рис. 25.66). Об этих белках мы поговорим подробнее позже. Сейчас же нам нужно рассмотреть специальные механизмы, при помощи которых Т-клетки распознают чужеродный антиген на поверхности антигенпрезентирующей клетки.

25.4.2. Презентация антигена дендритными клетками может либо активировать Т-клетки, либо вызвать их толерантность

Для того чтобы наивные цитотоксические Т-клетки смогли убить свои клетки-мишени, а Т-хелперы - помочь им справиться с патогеном, и те, и другие, должны быть активированы в направлении пролиферации и дифференцировки в эффектор-ные клетки. Такая активация происходит во вторичных лимфоидных органах на поверхности активированных **дендритных клеток** (рис. 25.44), которые презентуют на своей поверхности чужеродный антиген (в комплексе с белками МНС), наряду с костимулирующими белками. В отличие от наивных Т-лимфоцитов, Т-клетки памяти могут быть активированы не только дендритными клетками, но и антиген-презентирующими клетками других типов, включая макрофаги и В-клетки.

С Т-клетками взаимодействуют дендритные клетки разных видов, но все они имеют единственную известную функцию — презентировать антигены, которые или активируют, или подавляют Т-клетки. Дендритные клетки находятся во всех тканях организма, включая центральные и периферические органы лимфатической системы. Везде, где они сталкиваются с вторгшимися микробами, они эндоцитируют патогены или их продукты жизнедеятельности. Если встреча происходит не в лимфоидном органе, то дендритные клетки несут чужеродные антигены через лимфу к местным лимфатическим узлам или лимфоидным органам, ассоциирован-

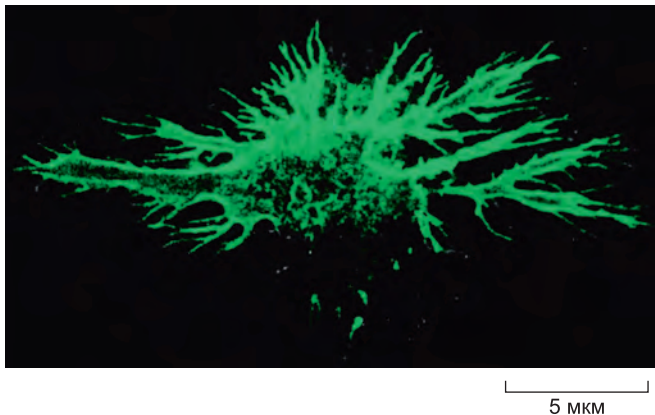
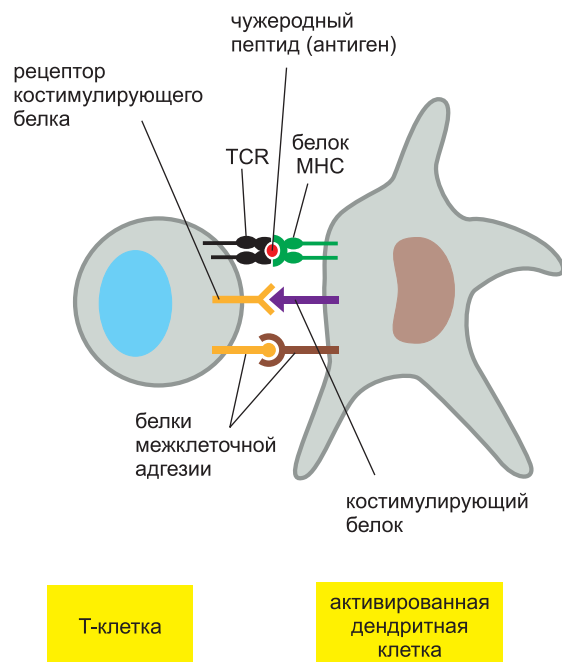


Рис. 25.44. Иммунофлуоресцентная микроскопия дендритной клетки в культуре. Эти антигенпрезентирующие клетки получили свое название ввиду наличия длинных отростков — «дендритов». Данная клетка была помечена моноклональными антителами, опознающими антиген на поверхности этих клеток. (С любезного разрешения David Katz.)

МНС, причем в большинстве случаев конкретный антиген неизвестен, что затрудняет изучение этого важного типа Т-лимфоцитов. — *Прим. ред.*

ным с кишечником. При встрече с патогеном у дендритной клетки активируются паттерн-распознающие рецепторы, и тем самым она побуждается к созреванию от антигенпоглощающей клетки до активированной антигенпрезентирующей клетки, способной активировать Т-клетки (см. рис. 25.5). Для активации наивных Т-клеток дендритные клетки должны быть сами активированными, причем они могут быть активированы или в результате повреждения ткани или с помощью эффекторных Т-хелперов. Полагают, что при повреждении ткани происходит активация дендритных клеток за счет белков теплового шока и кристаллов мочевой кислоты, которые высвобождаются из клеток, умирающих от некроза, в отличие от апоптических клеток (мы обсуждали это в главе 18).²

Активированные дендритные клетки презентуют на своей поверхности белковые молекулы трех типов, которые играют определенную роль в стимуляции Т-клетки к превращению в эффекторную клетку или в клетку памяти (рис. 25.45): 1) белки МНС, которые представляют чужеродный антиген ТCR, 2) коstimулирующие белки, которые связываются с комплементарными рецепторами на поверхности Т-клетки, и 3) молекулы межклеточной адгезии, которые позволяют Т-клетке оставаться связанной с антигенпрезентирующей клеткой достаточное для своей активации время (обычно на это требуется несколько часов). Кроме того, активированные дендритные клетки секретируют множество цитокинов, которые могут задавать тип развивающегося эффекторного Т-хелпера (обсудим это позже), а также определять, куда Т-клетка мигрирует после ее стимуляции. Например, Т-клетки, активированные дендритными клетками, выделенными из находящихся в кишечнике Пейеровых бляшек (см. рис. 25.3), в отличие от активации дендритными клетками, выделенными из лимфатических узлов, мигрируют к тонкому кишечнику, где, по всей вероятности, расположены их антигены.



Неактивированные дендритные клетки тоже имеют важные функции. Они помогают индуцировать толерантность аутореактивных Т-клеток (и в тимусе, и в других органах); такие дендритные клетки презентуют аутоантиген в отсутствие коstimулирующих молекул, необходимых для активации наивных Т-клеток. Они индуцируют толерантность по крайней мере двумя способами: они 1) могут стимулировать протекание в Т-клетке abortивных реакций, ве-

Рис. 25.45. Три типа белков на поверхности активированной дендритной клетки, участвующей в активации Т-клетки. Инвариантные полипептидные цепи, которые всегда устойчиво связаны с Т-клеточным рецептором (TCR), не показаны.

² Кроме того, в воспалительный процесс при некрозе вносят свой вклад синтезируемые в митохондриях белки и их ДНК, по сути типичные бактериальные паттерны патогенности. — Прим. ред.

дущих к ее инактивации или апоптозу, и 2) могут активировать регуляторные Т-клетки на подавление активности аутореактивной Т-клетки.

Перед обсуждением роли белков МНС в представлении антигена Т-клеткам мы рассмотрим функции Т-клеток трех основных классов.

25.4.3. Эффекторные цитотоксические Т-клетки побуждают зараженные клетки-мишени убивать самих себя

Цитотоксические Т-клетки защищают позвоночных животных от внутриклеточных патогенов, таких как вирусы, некоторые бактерии и паразиты, которые размножаются в цитоплазме клетки хозяина, где они ограждены от действия антител. Цитотоксические Т-клетки выполняют свою миссию, убивая зараженную клетку прежде, чем микробы смогут размножиться и покинуть зараженную клетку, с тем чтобы заразить соседние клетки. Как мы увидим позже, внутриклеточные микробы могут быть опознаны Т-клетками, потому что клетки позвоночных имеют механизмы для презентации фрагментов внутриклеточных белков на своей поверхности, где те связываются с белками МНС.

Как только цитотоксическая Т-клетка будет активирована зараженной антигенпрезентирующей клеткой и превратится в эффекторную клетку, она может убить любую клетку-мишень, несущую тот же патоген. Сначала эффекторная цитотоксическая Т-клетка опознает с помощью своих Т-клеточных рецепторов микробный антиген, связанный с белком МНС на поверхности зараженной клетки-мишени. Это приводит к перестройке цитоскелета Т-клетки и направлению ее убивающего аппарата на клетку-мишень (**рис. 25.46**). Такая направленность достигается, когда TCR активно агрегируют — наряду с различными корецепторами, молекулами адгезии и сигнальными белками — в участке контакта Т-клетки с клеткой-мишенью, образуя *иммунологический синапс*. Подобный синапс формируется и когда эффекторный Т-хелпер взаимодействует со своей клеткой-мишенью. Благодаря этой особенности эффекторные Т-клетки избегают распространения своих сигналов на соседние клетки.

Связавшись со своей клеткой-мишенью, эффекторная цитотоксическая Т-клетка может использовать одну из двух стратегий ее умерщвления, обе из которых основаны на побуждении клетки-мишени убить саму себя апоптозом (мы говорили об этом в главе 18). В процессе убийства зараженной клетки-мишени цитотоксическая Т-клетка обычно высвобождает порообразующий белок — так называемый **перфорин**, — гомологичный компоненту C9 системы комплемента (см. рис. 24.49). В цитотоксической Т-клетке перфорин хранится в секреторных везикулах и высвобождается посредством локального экзоцитоза в точке контакта с клеткой-мишенью. Затем перфорин полимеризуется в плазматической мембране клетки-мишени, образуя трансмембранные каналы. В секреторных пузырьках содержатся также сериновые протеазы, которые, как полагают, входят в цитозоль клетки-мишени через перфориновые каналы. Одна из протеаз, называемая *гранзимом В*, активирует проапоптотический белок *Bid* из семейства Bcl2, производя усеченную форму этого белка, названную *tBid*; затем *tBid* высвобождает из митохондрий цитохром *c*, запуская протеолитический каспазный каскад, который убивает клетку путем апоптоза (обсуждалось в главе 18) (**рис. 25.47, а**). Мыши с инактивированным геном перфорины не могут вырабатывать патоген-специфические цитотоксические Т-клетки и проявляют повышенную восприимчивость к некоторым вирусным и внутриклеточным бактериальным инфекциям.

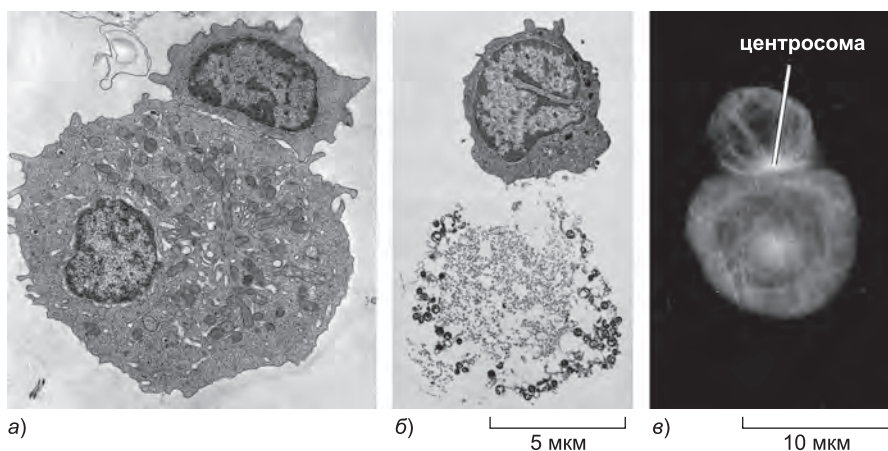


Рис. 25.46. Эффекторные цитотоксические Т-клетки, убивающие клетки-мишени в культуре. а) На электронном микрофотоснимке показана эффекторная цитотоксическая Т-клетка, связывающаяся со своей клеткой-мишенью. Цитотоксические Т-клетки были получены от мышей, иммунизированных клетками-мишенями в лице чужеродных опухолевых клеток. б) На электронном микрофотоснимке показана цитотоксическая Т-клетка и убитая ею опухолевая клетка. В отличие от картины, наблюдаемой в культуре, в организме животного убитая клетка-мишень была бы фагоцитирована соседними клетками задолго до того, как могла бы быть разрушена представленным на снимке образом. в) Иммунофлуоресцентная микроскопия Т-клетки и опухолевой клетки после окрашивания антителами к тубулину. Обратите внимание, что centrosома Т-клетки расположена в точке межклеточного контакта с клеткой-мишенью — иммунологическом синапсе. Секреторные гранулы в Т-клетке (не видны) сначала транспортируются по микротрубочкам к centrosоме, которая после этого перемещается к синапсу, доставляя гранулы туда, где они могут выпустить свое содержимое. См. также рис. 16.103. (Снимки а и б заимствованы из D. Zagury et al., *Eur. J. Immunol.* 5: 818–822, 1975. С любезного разрешения John Wiley & Sons, Inc. Снимок в воспроизведен из B. Geiger, D. Rosen and G. Berke, *J. Cell Biol.* 95: 137–143, 1982. С великодушного дозволения The Rockefeller University Press.)

Согласно второй стратегии умерщвления клетки-мишени, цитотоксическая Т-клетка активирует в ней вызывающий смерть каспазный каскад косвенным образом. Гомотримерный белок на поверхности цитотоксической Т-клетки, называемый **Fas-лиганд (CD95L)**, связывается с трансмембранными рецепторными белками на клетке-мишени, называемыми **Fas (CD95)**. Это связывание приводит к видоизменению белков Fas таким образом, что их сгруппированные цитозольные хвосты образуют комплекс с прокаспазой-8 при участии адапторного белка. Это приводит к активации молекул прокаспазы-8, которые запускают каспазный каскад, ведущий к апоптозу (рис. 25.47, б).

25.4.4. Эффекторные Т-хелперы помогают активировать прочие клетки систем врожденного и приобретенного иммунитета

В отличие от цитотоксических Т-клеток, **Т-хелперы** играют важнейшую роль в защите организма как от внеклеточных, так и от внутриклеточных патогенов. Во-первых, они помогают стимулировать В-клетки к выработке антител, которые, в свою очередь, помогают обезвреживать или уничтожать внеклеточные патогены и их токсичные продукты. Во-вторых, они стимулируют макрофаги к уничтожению любых внутриклеточных патогенов, размножающихся внутри их фагосом, иа цито-

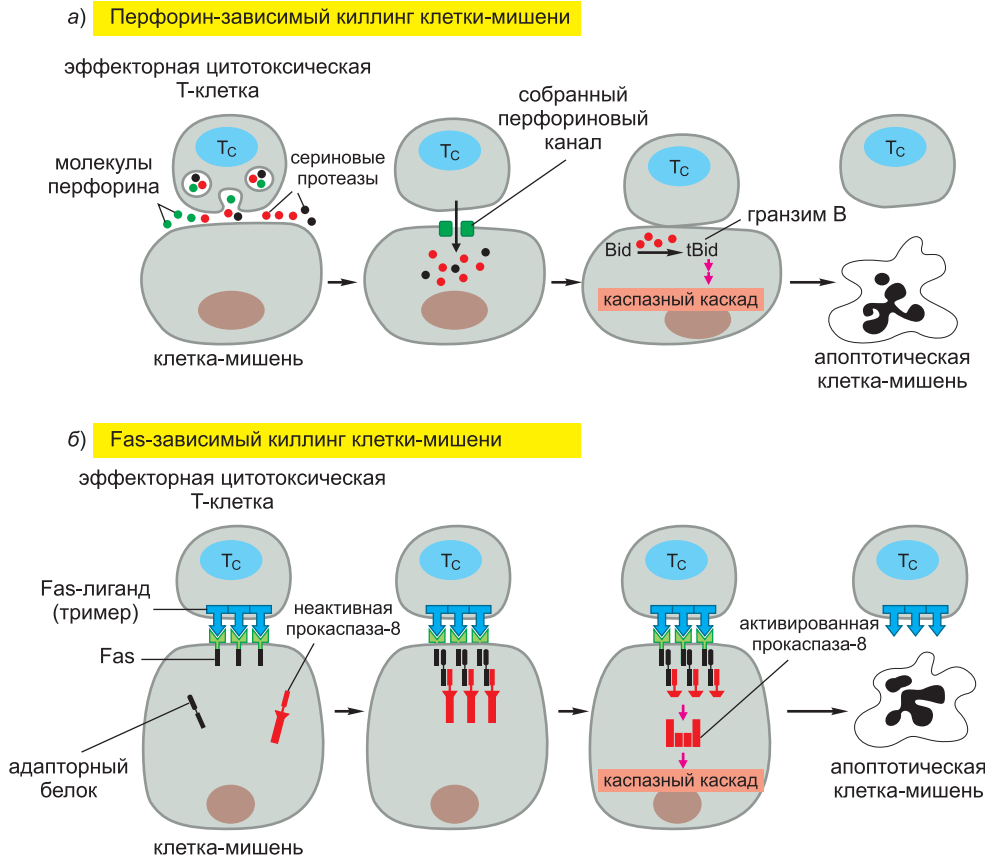


Рис. 25.47. Две стратегии, позволяющие эффекторным цитотоксическим Т-клеткам убивать свои клетки-мишени. В обоих случаях Т-клетка должна войти в контакт с клеткой-мишенью, чтобы убить ее, и одна-единственная цитотоксическая Т-клетка может убить много клеток-мишеней одну за другой. *а)* Цитотоксическая Т-клетка (T_c) выпускает на поверхность зараженной клетки-мишени перфорин и протеолитические ферменты посредством локального экзоцитоза. Высокая концентрация ионов Ca^{2+} во внеклеточной жидкости заставляет перфорин собираться в трансмембранные каналы в плазматической мембране клетки-мишени. Полагают, что эти каналы позволяют протеолитическим ферментам проникать в цитозоль клетки-мишени. Полагают, что эти каналы позволяют протеолитическим ферментам проникать в цитозоль клетки-мишени. Полагают, что эти каналы позволяют протеолитическим ферментам проникать в цитозоль клетки-мишени. Один из ферментов, а именно гранзим В, расщепляет белок Bid с образованием его укороченной формы tBid, которая высвобождает из митохондрий цитохром с, необходимый для запуска каспазного каскада, ведущего к апоптозу. *б)* Гомотримерный Fas-лиганд на поверхности цитотоксической Т-клетки связывается с белком Fas на поверхности клетки-мишени и активирует его. Цитозольный хвост белка Fas содержит *домен смерти*, который, будучи активированным, связывается с адапторным белком FADD, который, в свою очередь, привлекает специфическую прокаспазу (прокаспазу-8). Собранные в кластеры молекулы прокаспазы-8 активируются и запускают протеолитический каспазный каскад, ведущий к апоптозу (см. рис. 18.6).

токсические Т-клетки — к умерщвлению зараженных клеток-мишеней. В-третьих, они могут стимулировать дендритную клетку к поддержанию ее в активированном состоянии.

Как только антигенпрезентирующая клетка активирует Т-хелпер на превращение в эффекторную клетку, последняя может начать помогать активации других клеток. Она делает это как посредством выделения разнообразных костимулирующих цитоки-

нов, так и путем презентации на своей поверхности костимулирующих белков. Будучи активирован своим связыванием с антигеном на дендритной клетке, наивный Т-хелпер обычно дифференцируется в эффекторные Т-хелперы одного из двух типов — T_H1 или T_H2 . T_H1 -клетки главным образом участвуют в иммунитете к внутриклеточным микробам и помогают активировать макрофаги, цитотоксические Т-клетки и В-клетки. T_H2 -клетки в основном вовлечены в иммунитет к внеклеточным патогенам, в особенности к многоклеточным паразитам, и помогают активировать В-клетки на выработку антител к патогену (рис. 25.48). Как мы увидим в дальнейшем, тип развивающихся Т-хелперов в значительной степени определяется природой вторгшегося патогена и характером вызываемых им реакций врожденного иммунитета. От типа развивающихся Т-хелперов, в свою очередь, зависит характер реакций приобретенного иммунитета, мобилизованного для борьбы с захватчиками.

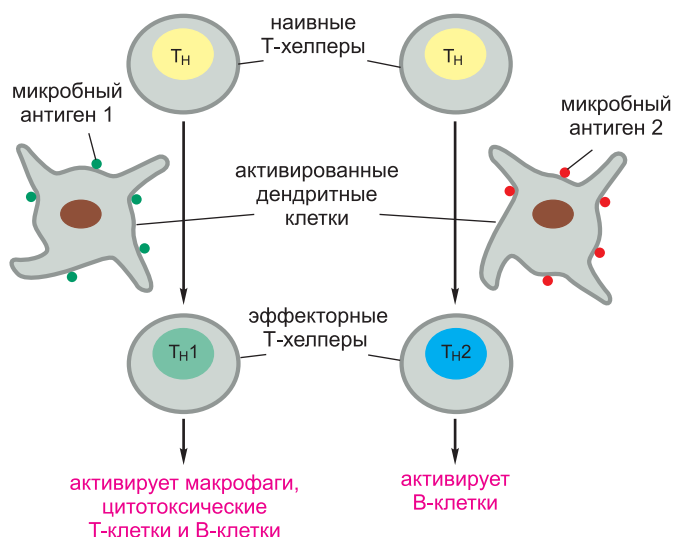


Рис. 25.48. Происходящая в периферическом органе лимфатической системы дифференцировка наивных Т-хелперов в эффекторные T_H1 - или T_H2 -клетки. Природа активированной дендритной клетки и характеристики патогена, который ее активировал, главным образом и определяют, какого типа эффекторные Т-хелперы будут развиваться.

В некоторых случаях наивный Т-хелпер, встретивший свой антиген в периферическом органе лимфатической системы, развивается в такую эффекторную клетку, которая не возбуждает, а наоборот, подавляет иммунную реакцию. Однако такие регуляторные Т-клетки развиваются главным образом в тимусе и представляют отдельный класс Т-клеток, о которых мы сейчас и поговорим.

25.4.5. Регуляторные Т-клетки подавляют активность других Т-клеток

Регуляторные Т-клетки трудно поддавались исследованию и описанию — в значительной степени потому, что до недавнего времени не было хороших маркеров для их опознавания. В действительности, многие годы иммунологи подвергали сомнению сам факт существования таких клеток. Впервые они были опознаны по своей способности

подавлять активность других лимфоцитов и поэтому были названы *Т-супрессорами*. Когда были открыты их характеристические маркеры, их переименовали в *регуляторные Т-клетки*, причем было показано, что они подавляют активность эффекторных Т-клеток (Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток), а также дендритных клеток. Хотя регуляторные Т-клетки составляют менее 10% всех Т-клеток, находящихся в крови и периферических органах лимфатической системы, они играют ключевую роль в иммунологической ауто толерантности, подавляя активность аутореактивных эффекторных Т-клеток (Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток). Кроме того, они помогают предотвращать чрезмерные Т-клеточные реакции на микробные антигены при хронических инфекциях. Действуя таким образом они защищают ткани хозяина от повреждения реакциями приобретенного иммунитета.

Долгожданным прорывом в изучении регуляторных Т-клеток стало открытие того факта, что они одни экспрессируют фактор транскрипции *Foxp3*, который служит и однозначным маркером этих клеток и главным регулятором их развития. Если ген, кодирующий этот белок, инактивирован, к примеру, у мыши или человека, то такая особь не может вырабатывать регуляторные Т-клетки и у нее развивается раннее смертельное аутоиммунное заболевание, затрагивающее многие органы. Способы, которыми регуляторные Т-клетки подавляют действие эффекторных Т-клеток или дендритных клеток, ясны еще не до конца, но один из них, сопряжен с выделением ингибиторных цитокинов *TGFβ* и *интерлейкина 10 (IL10)*.

Ну а теперь мы перейдем к ключевой роли белков МНС в представлении антигена Т-клеткам.

25.4.6. Т-клетки опознают чужеродные пептиды, связанные с белками МНС

Как мы говорили ранее, и цитотоксические Т-клетки, и Т-хелперы первоначально активируются в периферических органах лимфатической системы за счет опознавания чужеродного антигена на поверхности антигенпрезентирующей клетки (которая в случае наивной Т-клетки представлена дендритной клеткой). Антиген обычно представляется в форме пептидных фрагментов, полученных путем деградации чужеродных белковых антигенов внутри антигенпрезентирующей клетки. Процесс распознавания антигена зависит от наличия на антигенпрезентирующей клетке **белков МНС**. Они связывают фрагменты, доставляют их на поверхность клетки и представляют их — наряду с костимулирующими сигналами — Т-клеткам. Будучи активированными, новоявленные эффекторные Т-клетки опознают аналогичный комплекс пептид—МНС на поверхности своей клетки-мишени, будь то В-клетка, цитотоксическая Т-клетка, зараженный макрофаг (в случае Т-хелпера) или любая зараженная клетка хозяина (в случае цитотоксической Т-клетки); для Т-хелперов ею может послужить и сама дендритная клетка.

Белки МНС кодируются большим комплексом генов, называемым **главным комплексом гистосовместимости (МНС)**. Выделяют два основных класса белков МНС, их представители отличаются друг от друга и в структурном, и в функциональном отношении. *Белки МНС I класса* представляют чужеродные пептиды главным образом цитотоксическим Т-клеткам, а *белки МНС II класса* представляют чужеродные пептиды в основном Т-хелперам и регуляторным Т-клеткам (**рис. 25.49**).

Прежде чем разобрать механизмы процессинга белковых антигенов перед их презентацией Т-клеткам, нам следует более пристально посмотреть на сами белки МНС, которые играют столь важную роль в работе Т-клеток.

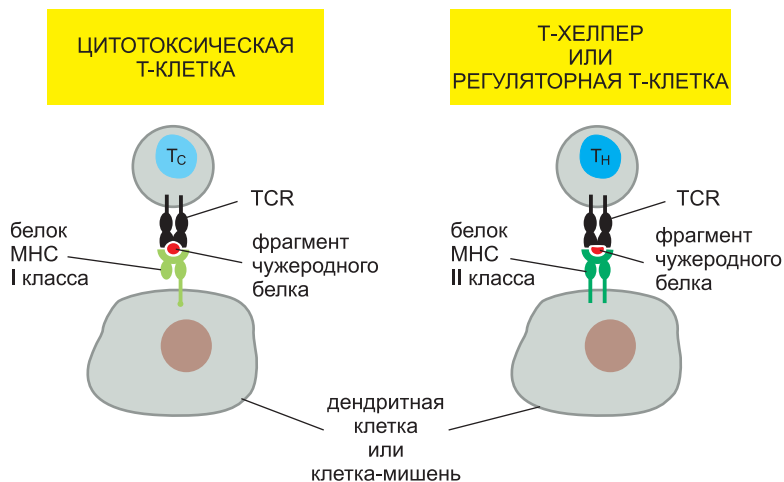


Рис. 25.49. Распознавание Т-клетками чужеродных пептидов, связанных с белками МНС. Цитотоксические Т-клетки опознают чужеродные пептиды, связанные с белками МНС I класса, тогда как Т-хелперы и регуляторные Т-клетки опознают чужеродные пептиды, связанные с белками МНС II класса. В обоих случаях Т-клетка распознает комплексы пептид–МНС, выставленные на поверхности дендритной клетки или клетки-мишени.

25.4.7. Белки МНС были обнаружены в ходе изучения реакций отторжения трансплантата, а их функции стали известны позднее

Первоначально белки МНС были обнаружены как главные антигены, опознаваемые в **реакциях на трансплантат**. Пересадка органов взрослого донора взрослой особи того же вида (*аллотрансплантаты*) или иного вида (*ксенотрансплантаты*) приводит обычно к их отторжению. Эксперименты по пересадке кожи между разными линиями мышей, проведенные в 1950-х годах, показали, что *отторжение трансплантата* обусловлено иммунной реакцией на чужеродные антигены, находящиеся на поверхности пересаженных клеток. В этих реакциях участвуют главным образом Т-клетки, реагирующие против генетически «чужеродных» вариантов белков клеточной поверхности, получивших название *молекул гистосовместимости* (от греческого слова *histos*, означающего «ткань»). Из них особенно большое значение имеют белки МНС, кодируемые генами, составляющими главный комплекс гистосовместимости (МНС). Белки МНС экспрессируются в клетках всех высших позвоночных. Впервые они были найдены у мышей и названы *антигенами H-2* (*histocompatibility-2 antigens*). У человека их называют *антигенами HLA* (*human-leucocyte-associated antigens*), потому что они впервые были обнаружены на лейкоцитах (белых клетках крови).

Три удивительных свойства белков МНС в течение многих лет ставили иммунологов в тупик. Во-первых, белки МНС занимают совершенно особое место по своему значению среди генов-мишеней при Т-клеточных реакциях на трансплантат. Во-вторых, узнавать чужеродные белки МНС может необычайно большая доля Т-клеток: тогда как на типичный вирусный антиген реагирует менее 0,001% наименее Т-клеток организма, на чужеродные белки МНС другого организма реагирует до 10% таких клеток. В-третьих, некоторые из генов, кодирующих белки МНС,

наиболее *полиморфны* из всех известных генов высших позвоночных. Это означает, что в пределах одного вида наблюдается необычайно большое (в некоторых случаях более 400) число *аллелей* (альтернативных форм одного и того же гена) без преобладания какого-либо из них над остальными. Поскольку каждый индивид имеет по крайней мере 12 генов, кодирующих белки МНС (мы поясним это позже), очень редко можно встретить двух неродственных индивидов, имеющих идентичный набор белков МНС. Эти различия весьма затрудняют подбор пары донор—реципиент для трансплантации органа (за исключением случаев близкого родства между ними).

Конечно, позвоночному животному не нужно защищать свой организм от вторжения чужеродных клеток какого-либо другого позвоночного.³ Так что очевидная одержимость его Т-клеток чужеродными белками МНС и чрезвычайный полиморфизм этих молекул были большой загадкой. Эта загадка была по крайней мере частично разгадана, когда исследователи обнаружили, что 1) белки МНС связывают фрагменты чужеродных белков и выставляют их на поверхности клеток хозяина для опознавания Т-клетками, и 2) Т-клетки реагируют на чужеродные белки МНС тем же образом, что и на «свои» белки МНС, связанные с чужеродным антигеном.

25.4.8. Белки МНС I и II классов — структурно подобные гетеродимеры

Белки МНС I и II классов имеют очень похожую общую структуру. И те и другие представляют собой трансмембранные гетеродимеры с внеклеточными N-концевыми доменами, связывающими антиген для представления Т-клеткам.

Белки МНС I класса состоят из трансмембранной α -цепи, кодируемой геном МНС I класса, и маленького внеклеточного белка, названного β_2 -микроглобулином (β_2 -microglobulin) (рис. 25.50, а). β_2 -микроглобулин не пронизывает мембрану и кодируется геном, который не входит в кластер генов МНС. α -цепь свернута в три внеклеточных глобулярных домена (α_1 , α_2 и α_3), причем домен α_3 и β_2 -микроглобулин расположены ближе к мембране и по структуре каждый похожи на иммуноглобулиновый домен. Два N-концевых домена α -цепи, наиболее удаленные от мембраны, содержат полиморфные (вариабельные) аминокислоты, опознаваемые Т-клетками в ходе реакций на трансплантат. Эти домены связывают пептид и представляют его цитотоксическим Т-клеткам.

Как и белки МНС I класса, **белки МНС II класса** — гетеродимеры с двумя консервативными Ig-подобными доменами, расположенными вблизи мембраны, и двумя полиморфными (вариабельными) N-концевыми доменами, наиболее удаленными от мембраны. Однако в этих белках обе цепи (α и β) кодируются генами в пределах МНС и обе пронизывают мембрану (рис. 25.50, б). Оба полиморфных домена связывают пептид и представляют его Т-хелперам или регуляторным Т-клеткам.

Наличие Ig-подобных доменов в белках I и II классов позволяет предположить, что белки МНС и антитела имеют общую эволюционную историю. Местоположения генов, кодирующих белки МНС I и II классов у человека, представлены на рис. 25.51, где показано, каким образом любому человеку удается вырабатывать шесть типов белков МНС I класса и более шести типов белков МНС II класса.

Вдобавок к классическим белкам МНС I класса, известно много *подобных белкам МНС I класса* белков, которые образуют димеры с β_2 -микроглобулином.

³ За исключением защиты от трансмиссивных форм рака, таких как описанная в задаче 20.10 лицевая опухоль тасманских дьяволов, или передающаяся половым путем инфекционная саркома Стикера у собак. — *Прим. ред.*

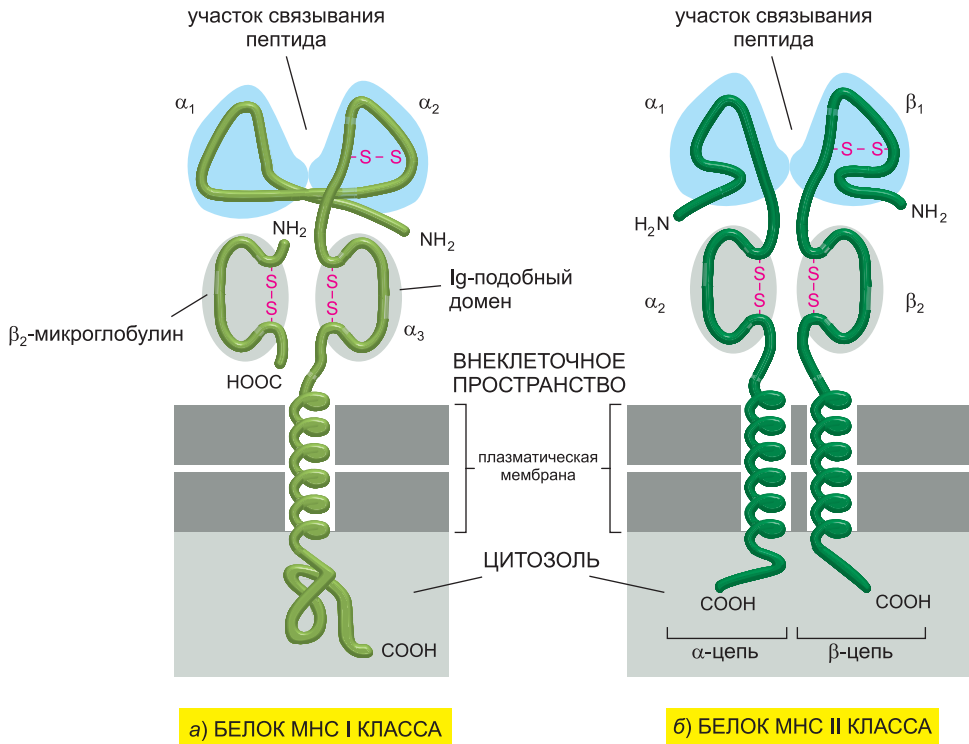


Рис. 25.50. Белки МНС I и II классов. а) α -цепь молекулы I класса имеет три внеклеточных домена — α_1 , α_2 и α_3 , — кодируемых разными экзонами. Она нековалентно связана с полипептидной цепью меньших размеров (β_2 -микроглобулином), которая не кодируется в МНС. Домен α_3 и β_2 -микроглобулин являются Ig-подобными. В то время как β_2 -микроглобулин инвариантен, α -цепь чрезвычайно полиморфна, главным образом это относится к доменам α_1 и α_2 . б) В белках МНС II класса полиморфны обе цепи, в основном это относится к доменам α_1 и β_1 ; домены α_2 и β_2 — Ig-подобные. Таким образом, белки МНС I и II классов во многом поразительно сходны. У тех и других два наиболее удаленных домена (на синем фоне) полиморфны и взаимодействуют между собой, образуя бороздку, которая связывает пептидные фрагменты чужеродных белков и представляет их Т-клеткам.

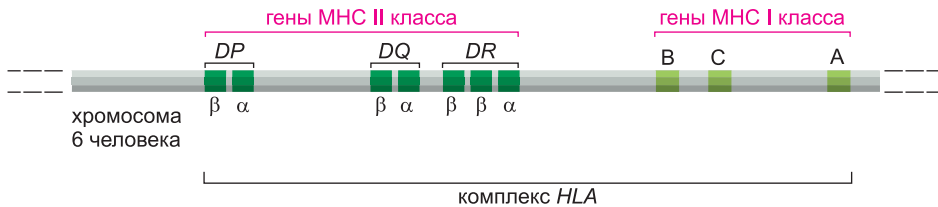


Рис. 25.51. Гены МНС человека. На этом упрощенном схематическом изображении показано местоположение генов, кодирующих трансмембранные субъединицы белков МНС I класса (светло-зеленые) и II класса (темно-зеленые). Представленные гены кодируют три типа белков I класса (HLA-A, HLA-B и HLA-C) и три типа белков II класса (HLA-DP, HLA-DQ и HLA-DR). Таким образом, индивид может вырабатывать шесть типов белков МНС I класса (три кодируемых материнскими генами и три кодируемых отцовскими генами) и более шести типов белков МНС II класса. Число производимых белков МНС II класса больше шести, потому что имеется два гена DR β и потому что полипептидные цепи, кодируемые материнскими и отцовскими генами, могут иногда спариваться.

Эти белки кодируются генами, расположенными вне МНС, и намного менее полиморфны, чем белки МНС, однако некоторые из них представляют Т-клеткам определенные микробные антигены, включая некоторые липиды и гликолипиды. Хотя функции большинства из них неизвестны, некоторые их представители играют определенную роль в развитии головного мозга.

25.4.9. Белки МНС связывают пептиды и взаимодействуют с Т-клеточными рецепторами

Всякий индивид способен производить классические белки МНС лишь небольшого числа разновидностей, хотя вместе они должны быть способны представлять Т-клеткам пептидные фрагменты практически любого чужеродного белка. Таким образом, в отличие от молекулы антитела, каждый белок МНС должен быть способен связывать очень большое число различных пептидов. Рентгеноструктурные исследования белков МНС позволили выявить структурную основу такой универсальности.

Как показано на **рис. 25.52, а**, белки МНС I класса имеют один-единственный *участок связывания пептида*, расположенный на одном из концов молекулы и далеко выступающий из плазматической мембраны. Этот участок состоит из глубокой бороздки между двумя длинными α -спиралями; бороздка сужается на обоих концах, так что ее размер приспособлен для того, чтобы разместить вытянутый пептид длиной примерно 8–10 аминокислот. Фактически, когда впервые был произведен рентгеноструктурный анализ белка МНС I класса, эта бороздка содержала связанные пептиды, которые совместно кристаллизовались с белком МНС (**рис. 25.52, б**), что наводит на мысль о том, что как только пептид связывается с этим участком, он уже более не отделяется.

Типичный пептид, связывающийся в бороздке белка МНС I класса, имеет вытянутую конформацию, при этом его концевая аминогруппа связывается с инвариантными аминокислотами белка МНС на одном конце бороздки, а его концевая карбоксильная группа связывается с инвариантными аминокислотами на другом конце бороздки (**рис. 25.53**). Некоторые боковые радикалы аминокислот презентруемого пептида связываются с вариабельными (полиморфными) аминокислотами белка МНС, распределенными по бороздке, в то время как другие боковые радикалы смотрят наружу в таком положении, чтобы их могли опознать рецепторы TCR на цитотоксических Т-клетках. Поскольку инвариантные аминокислоты белка МНС на концах бороздки узнают те особенности остова пептида, которые являются общими для всех пептидов, каждая аллельная форма белков МНС I класса может связывать большое разнообразие пептидов с самыми разными последовательностями. В то же время полиморфные аминокислоты белка МНС, расположенные вдоль бороздки, связывают определенные боковые цепи пептида и тем самым гарантируют, что каждая аллельная форма связывает и презентрует свой отличительный набор пептидов. Таким образом, имеющиеся в арсенале любого человека шесть типов белков МНС I класса могут презентировать цитотоксическим Т-клеткам широкий диапазон чужеродных пептидов, но у разных индивидуумов они делают это немного разными способами.

У белков МНС II класса трехмерная структура весьма сходна со структурой белков МНС I класса, но связывающая антиген бороздка не сужается на концах, так что может вместить более длинные пептиды, обычно имеющие 12–20 аминокислот в длину. Более того, концы пептида не связываются: пептид удерживается за счет взаимодействий с инвариантными аминокислотами белка МНС, распределенными

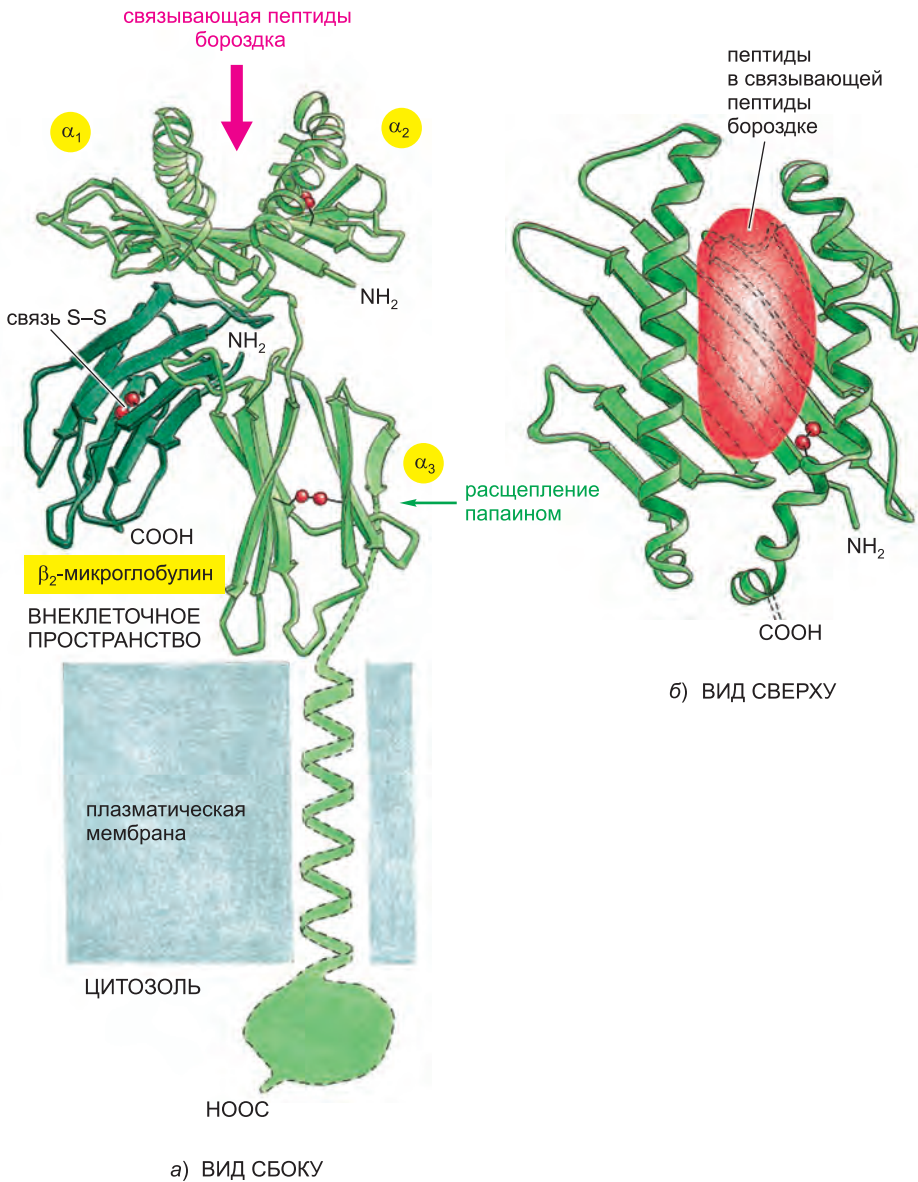


Рис. 25.52. Трехмерная структура белка МНС I класса человека, определенная с помощью рентгено-структурного анализа кристаллов внеклеточной части его молекулы. До процедуры кристаллизации внеклеточная часть белка была отщеплена от трансмембранного сегмента протеолитическим ферментом (папаином). а) Оба домена, расположенные ближе всего к плазматической мембране (α_3 - и β_2 -микроглобулин), сходны с типичным Ig-доменом (см. рис. 25.34), в то время как два домена, наиболее удаленные от мембраны (α_1 и α_2), весьма подобны друг другу и вместе формируют в верхней части молекулы бороздку, связывающую пептид. б) Вид сверху на пептидсвязывающую бороздку. Маленькие пептиды, выделенные совместно с белком МНС, показаны схематично. (P.J. Bjorkman et al., *Nature* 329: 506–512, 1987. С любезного разрешения Macmillan Publishers Ltd.)

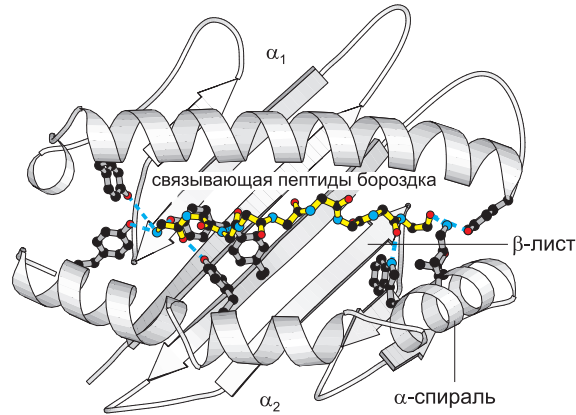
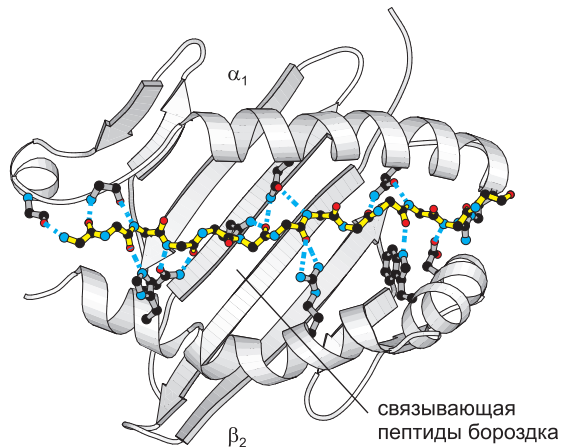


Рис. 25.53. Пептид в бороздке белка МНС I класса. Схематическое изображение бороздки, вид сверху. Ленточное изображение бороздки белка МНС показано серым; бороздка образована доменами α_1 и α_2 белка (см. рис. 25.50, а и 25.52, а). Основная цепь связанного пептида показана желтым, атомы углерода в ней — черным, атомы кислорода — красным, а атомы азота — синим; N-конец пептида находится слева. Обратите внимание, что концевые amino- и карбоксильная группы основной цепи пептида связаны посредством водородных и ионных связей (очерчены пунктирными синими линиями) с боковыми цепями инвариантных аминокислот белка МНС на концах бороздки (показаны полностью). Боковые цепи некоторых аминокислот пептида, хотя и не показаны на этом рисунке, связаны с вариabельными (полиморфными) аминокислотами бороздки, в то время как другие направлены наружу и могут быть узнаны молекулой ТСR на цитотоксической Т-клетке. (С любезного разрешения Paul Travers.)

по всей длине бороздки (рис. 25.54). Как и в случае белков МНС I класса, боковые цепи других аминокислот пептида или связываются с полиморфными аминокислотами белка МНС вдоль бороздки, или направлены наружу для узнавания Т-клеточных рецепторов Т-хелперов или регуляторных Т-клеток. Бороздка белков МНС II класса может вместить более разнородный набор пептидов, чем бороздка белков МНС I класса. Таким образом, хотя любой человек вырабатывает белки II класса лишь небольшого числа разновидностей (каждая со своей уникальной связывающей пептид бороздкой), в своей совокупности эти белки могут связывать и презентировать огромное разнообразие чужеродных пептидов Т-хелперам, которые играют ключевую роль почти что во всех реакциях приобретенного иммунитета.

Рис. 25.54. Пептид, связанный в бороздке белка МНС II класса. Схематическое изображение схоже с представленным на рис. 25.53. Бороздка образована N-концевыми доменами α - и β -цепей (α_1 и β_1 — см. рис. 25.50, б). Обратите внимание, что пептид выходит за края бороздки и что его основная цепь связана водородными связями, распределенными по длине пептида, с боковыми цепями инвариантных аминокислот в бороздке. (С любезного разрешения Paul Travers.)



При помощи рентгеноструктурного анализа комплексов, образованных между растворимым TCR и растворимым белком МНС с пептидом в его связывающей бороздке, был установлен способ, с помощью которого TCR распознает комплекс вида пептид–МНС. Растворимые белки для этих экспериментов были получены благодаря технологии рекомбинантной ДНК. Во всех изученных случаях TCR ложился на пептидсвязывающую бороздку по диагонали и связывался через свои гипервариабельные петли V_α и V_β со стенками бороздки, и с пептидом (рис. 25.55). В настоящее время растворимые комплексы вида пептид–молекула МНС широко применяются для обнаружения Т-клеток с определенной специфичностью; обычно они шиты перекрестными связями в тетрамеры, так что могут связываться с четырьмя TCR на поверхности Т-клетки (достигая высокой avidности).

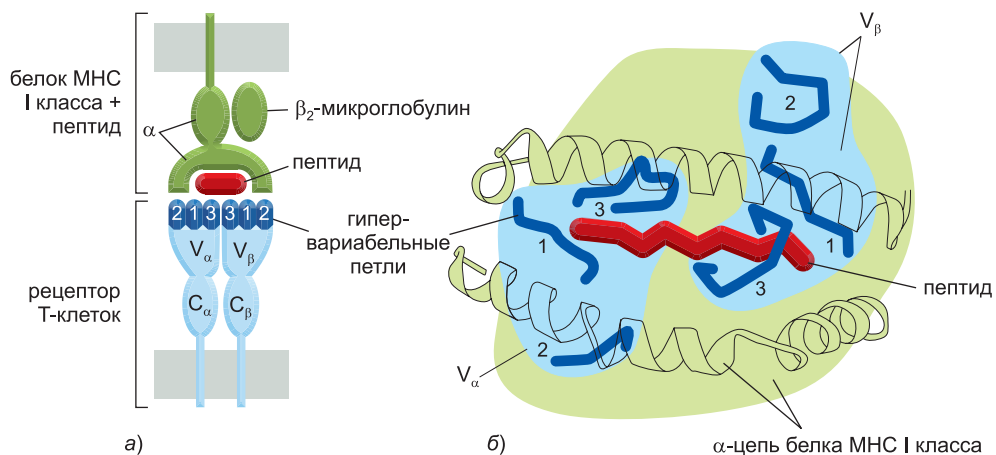


Рис. 25.55. Взаимодействие Т-клеточного рецептора с вирусным пептидом, связанным с белком МНС I класса. а) Схематическое изображение гипервариабельных петель доменов V_α и V_β Т-клеточного рецептора, взаимодействующих с пептидом и со стенками пептидсвязывающей бороздки белка МНС. Обратите внимание, что с пептидом преимущественно взаимодействуют третьи гипервариабельные петли, которые наиболее вариабельны, тогда как со стенками пептидсвязывающей бороздки преимущественно связываются прочие гипервариабельные петли. б) Изображение «следа» V-доменов (голубой) и гипервариабельных петель (темно-синий) рецептора на пептидсвязывающей бороздке, полученное посредством рентгеноструктурного анализа. Домен V_α покрывает N-концевую половину пептида, в то время как домен V_β покрывает его C-концевую половину. Обратите внимание, что рецептор ориентирован по диагонали к связывающей пептиды бороздке. (Изображение б переработано из D. N. Garboczi et al., *Nature* 384: 134–141, 1996. С любезного разрешения Macmillan Publishers Ltd.)

25.4.10. Белки МНС помогают направлять Т-клетки к соответствующим мишеням

Практически все содержащие ядро клетки позвоночных экспрессируют белки МНС I класса. Предполагают, что это нужно для того, чтобы эффекторные цитотоксические Т-клетки были способны нацеливаться и убить любую клетку организма, зараженную внутриклеточным патогеном, таким как вирус. Распространение же белков МНС II класса ограничено преимущественно клетками, которые собирают чужеродные антигены из внеклеточной жидкости и взаимодействуют с Т-хелперами. Такие клетки экспрессируют также и белки МНС I класса. В их число входят дендритные клетки,

которые первоначально активируют наивные Т-хелперы, а также мишени эффекторных Т-хелперов, такие как макрофаги и В-клетки.

Важно, чтобы эффекторные цитотоксические Т-клетки направляли свою атаку главным образом на клетки, которые *производят* чужеродные антигены (такие как вирусные белки), в то время как Т-хелперы сосредоточивали бы свою помощь главным образом на клетках, которые *вобрали* чужеродные антигены из внеклеточной жидкости. Так как клетки-мишени первого типа всегда представляют угрозу, в то время как клетки второго типа необходимы для защитных механизмов системы приобретенного иммунитета организма, необходимо, чтобы Т-клетки не путали клетки-мишени этих двух типов и не направляли свою цитотоксическую и «хелперную» функции не тем адресатам. Поэтому в дополнение к рецептору антигенов, который опознает комплексы вида пептид–МНС, Т-клетки всех трех основных классов экспрессируют также и *корцептор*, который опознает отдельную, инвариантную часть белка МНС соответствующего класса. Эти два корцептора, названные CD4 и CD8, помогают направлять Т-хелперы (и регуляторные Т-клетки) и цитотоксические Т-клетки соответственно к положенным им мишеням. В **таблице 25.2** приведен обзор свойств белков МНС I и II классов.

Таблица 25.2. Свойства белков МНС I и II классов у человека

| | I КЛАСС | II КЛАСС |
|--|---|---|
| Генетические локусы | <i>HLA-A, HLA-B, HLA-C</i> | <i>DP, DQ, DR</i> |
| Субъединичная структура | α -цепь + β_2 -микроглобулин | α -цепь + β -цепь |
| Распределение между клетками | большинство содержащих ядро клеток | дендритные клетки, В-клетки, макрофаги, эпителиальные клетки тимуса, некоторые другие |
| Клетки, которым они презентуют антиген | цитотоксические Т-клетки | Т-хелперы, регуляторные Т-клетки |
| Источник пептидных фрагментов | главным образом белки, синтезируемые в цитоплазме | главным образом эндоцитированная плазматическая мембрана и внеклеточные белки |
| Полиморфные домены | $\alpha_1 + \alpha_2$ | $\alpha_1 + \beta_1$ |
| Распознающий корцептор | CD8 | CD4 |

25.4.11. Корцепторы CD4 и CD8 связываются с инвариантными частями белков МНС

Сродство TCR к комплексам пептид–МНС на антигенпрезентирующей клетке или на клетке-мишени обычно слишком мало само по себе, чтобы опосредствовать функциональное взаимодействие между этими двумя клетками. Обычно Т-клетке необходимы *дополнительные рецепторы*, помогающие стабилизировать это взаимодействие увеличением общей силы межклеточной адгезии. В отличие от TCR и от белков МНС, дополнительные рецепторы инвариантны и не связывают чужеродные антигены.

Если дополнительные рецепторы играют прямую роль в активации Т-клетки, производя свои собственные внутриклеточные сигналы, их называют **корцепторами**. Наиболее важные и изученные лучше других корцепторы на Т-клетках — белки CD4 и CD8, представляющие собой один раз пронизывающие цитоплазматическую мембрану трансмембранные белки с внеклеточными Ig-подобными доменами. По-

добно Т-клеточным рецепторам, они распознают белки МНС, но, в отличие от TCR, связываются с инвариантными частями белка, удаленными от пептидсвязывающей бороздки. Корецептор **CD4** экспрессируется и на Т-хелперах, и на регуляторных Т-клетках и связывается с белками МНС II класса, тогда как корецептор **CD8** экспрессируется на цитотоксических Т-клетках и связывается с белками МНС I класса (рис. 25.56). Таким образом, корецепторы CD4 и CD8 содействуют Т-клетке в распознавании, помогая ей сфокусироваться на определенных белках МНС и, таким образом, на клетках-мишенях определенного типа: узнавание белков МНС I класса позволяет цитотоксическим Т-клеткам нацеливаться на любую клетку хозяина, в то время как опознавание белков МНС II класса позволяет Т-хелперам направлять свое действие на небольшую субпопуляцию клеток — преимущественно на дендритные клетки, макрофаги и В-клетки. Цитоплазматический хвост белков CD4 и CD8 связан с белком *Lck* из семейства цитоплазматических тирозинкиназ Src, который фосфорилирует различные внутриклеточные белки по тирозиновым остаткам и таким образом участвует в активации Т-клетки (обсуждалось в главе 15). Антитела к белкам CD4 и CD8 широко используются в качестве инструмента, помогающего различать между собой Т-клетки основных классов, как у человека, так и у подопытных животных. Так, корецептор CD8 экспрессируют только цитотоксические Т-клетки, а корецептор CD4 экспрессируют и Т-хелперы, и регуляторные Т-клетки.

По иронии судьбы вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) использует молекулы CD4 (равно как и рецепторы хемокинов) для проникновения в Т-хелперы. Больные СПИДом восприимчивы к неопасным для здоровых людей микробным инфекциям, потому что ВИЧ уничтожает Т-хелперы. В результате большинство больных СПИДом умирает от инфекции в течение нескольких лет после проявления симптомов болезни, если их не лечат комбинацией мощных противовирусных лекарств. Кроме того, ВИЧ использует корецепторы CD4 и рецепторы хемокинов

для проникновения в макрофаги, которые тоже несут на своей поверхности рецепторы обоих видов.

Прежде чем Т-клетка сможет опознать чужеродный белок, он должен быть процессирован внутри антигенпрезентирующей клетки или клетки-мишени таким образом, чтобы клетка могла выставить его на своей

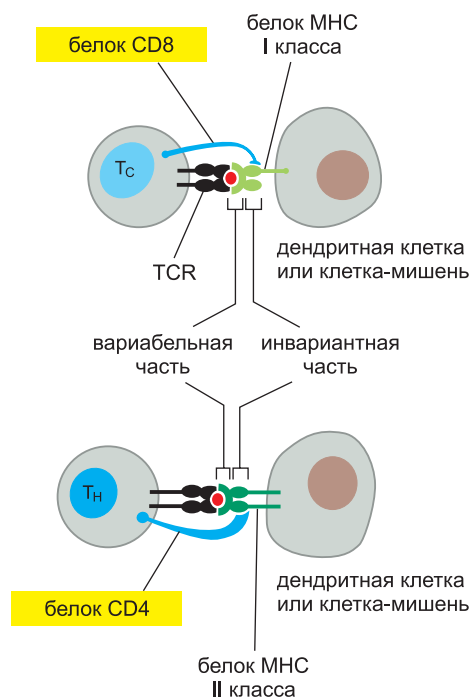


Рис. 25.56. Корецепторы CD4 и CD8 на поверхности Т-клеток. Цитотоксические Т-клетки (T_c) экспрессируют корецептор CD8, который распознает белки МНС I класса, тогда как Т-хелперы (T_H) и регуляторные Т-клетки (не показаны) экспрессируют корецептор CD4, который опознает белки МНС II класса. Обратите внимание, что корецепторы связываются с тем же белком МНС, что и TCR, так что в процессе взаимодействия они сближаются с TCR. В то время как TCR связывается с вариационными (полиморфными) частями белка МНС, которые формируют пептидсвязывающую бороздку, корецептор связывается с инвариантной частью, расположенной довольно далеко от бороздки.

поверхности в виде комплексов пептид—МНС. Итак, сейчас мы увидим, как зараженная вирусом антигенпрезентирующая клетка или клетка-мишень процессирует вирусные белки для их представления цитотоксической Т-клетке. Затем мы поговорим о том, как поглощенные чужеродные белки процессируются для представления Т-хелперу.

25.4.12. Цитотоксические Т-клетки узнают фрагменты чужеродных цитозольных белков, связанные с белками МНС I класса

Убедительные доказательства того, что белки МНС I класса участвуют в узнавании вирусных антигенов цитотоксическими Т-клетками, были получены в эксперименте, проведенном в 1970-х годах. Исследователи обнаружили, что эффекторные цитотоксические Т-клетки зараженной вирусом мыши способны убивать культивируемые клетки, зараженные тем же вирусом, только в том случае, если эти клетки-мишени экспрессируют хотя бы несколько таких же белков МНС I класса, что и зараженная мышь. Этот эксперимент показал, что цитотоксические Т-клетки любого индивида могут узнать определенный чужеродный антиген на клетке-мишени только тогда, когда эта клетка-мишень экспрессирует по крайней мере некоторые из аллельных форм белков МНС I класса, экспрессируемых этим индивидуумом; это явление известно как *МНС-рестрикция* (рис. 25.57).

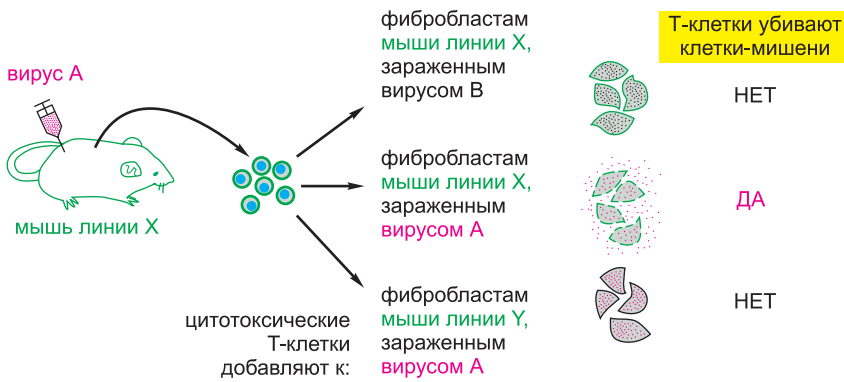
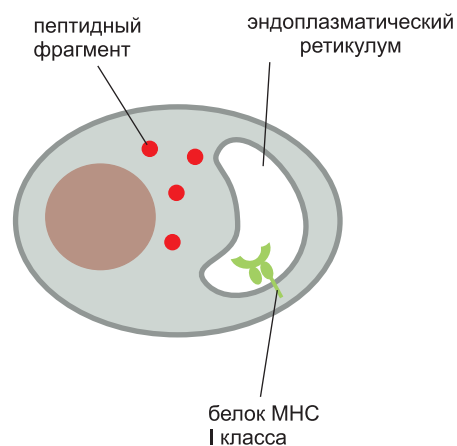


Рис. 25.57. Классический эксперимент, показывающий, что эффекторная цитотоксическая Т-клетка помимо вирусного антигена, опознает и некоторые особенности поверхности клетки-мишени хозяина. Мышей линии X заражают вирусом А. Семь дней спустя в селезенках этих мышей находятся эффекторные цитотоксические Т-клетки, способные убивать зараженные вирусом фибробласты линии X в клеточной культуре. Как и ожидалось, они убивают только фибробласты, зараженные вирусом А, и не убивают фибробласты, зараженные вирусом В. Таким образом, цитотоксические Т-клетки являются специфичными к вирусу. Однако те же Т-клетки не способны убивать также и фибробласты от мышей линии Y, зараженных тем же вирусом А, а это говорит о том, что цитотоксические Т-клетки распознают генетические отличия не только у вирусов, но и у фибробластов этих двух видов. Для точного определения этого различия потребовались специальные линии мышей (известные как *конгенные линии*), которые или были генетически идентичны, за исключением аллелей в локусах белков МНС I класса, или, наоборот, были генетически различны, за исключением этих аллелей. Благодаря такого рода методике удалось установить, что для убийства зараженных клеток-мишеней было необходимо, чтобы они экспрессировали по крайней мере один из тех же аллелей белков МНС I класса, что экспрессировала исходная зараженная мышь. Этот результат позволил предположить, что белки МНС I класса так или иначе необходимы для представления связанных с клеточной поверхностью вирусных антигенов эффекторным цитотоксическим Т-клеткам, и что они делают это с высокой специфичностью.

Полученные позже данные указали на то, что при убийстве зараженной вирусом клетки цитотоксическая Т-клетка опознает продукты деградации внутренних белков вируса, связанные с белками МНС I класса на поверхности зараженной клетки. Поскольку Т-клетка способна опознавать крошечные количества чужеродного антигена (всего лишь 1–10 комплексов пептид–МНС для Т-клеток с рецепторами наивысшей аффинности), для запуска разрушающего действия эффекторной цитотоксической Т-клетки достаточно, чтобы лишь малая часть фрагментов, полученных из вирусных белков, связалась с белками МНС I класса и попала на поверхность клетки.

Внутренние белки вируса синтезируются в цитозоле зараженной клетки. Как было сказано в главе 3, протеолитическая деградация в цитозоле опосредуется главным образом АТР- и убиквитин-зависимым механизмом, который действует в *протеасомах* — крупных комплексах протеолитических ферментов, построенных из множества различных белковых субъединиц. По всей вероятности, все протеасомы способны производить пептидные фрагменты подходящей — для того чтобы вписаться в бороздку белков МНС I класса, — длины, поскольку на это способны даже протеасомы бактерий. Это предполагает, что бороздка МНС эволюционировала таким образом, чтобы прийти в соответствие пептидам примерно такой длины. Тем не менее некоторые протеасомы явно специализированы для того, чтобы производить пептиды для белков МНС I класса, поскольку они содержат две субъединицы, кодируемые генами, расположенными в пределах хромосомной области, отвечающей за белки МНС.

Каким же образом пептиды, полученные в цитозоле, вступают в контакт с пептидсвязывающей бороздкой белков МНС I класса в просвете эндоплазматического ретикулума (ЭР) (рис. 25.58)? Впервые ответ на этот вопрос был получен в ходе наблюдений за мутантными клетками, в которых белки МНС I класса не экспрессировались на клеточной поверхности, а подвергались деградации внутри клетки. Оказалось, что мутантные гены в этих клетках кодировали субъединицы белка, принадлежащего к семейству *ABC-переносчиков*, которых мы рассматривали в главе 11. Этот переносчик расположен в мембране ЭР и использует энергию гидролиза АТР для перекачивания пептидов из цитозоля в просвет ЭР. Гены, кодирующие две его субъединицы, расположены в хромосомной области МНС, и если любой из этих генов инактивирован мутацией, то клетки не способны поставлять пептиды для белков МНС I класса. Поразительно, что в таких мутантных клетках белки МНС I класса деградируют внутри клетки, не достигая ее поверхности. Это происходит по-



тому, что для надлежащего сворачивания этих белков обычно требуется связывание пептида: пока белок МНС I класса не свяжет пептид, он остается в ЭР, будучи привязан к ABC-переносчику белком-шапероном; в мутантных клетках заключенные в ЭР белки МНС без связанного пептида в конечном счете подвергаются протеолизу (рис. 25.59).

Рис. 25.58. Проблема транспорта пептидов. Каким образом пептидные фрагменты попадают из цитозоля, где они производятся, в просвет, где расположены пептидсвязывающие бороздки белков МНС I класса? Необходим специальный процесс переноса.

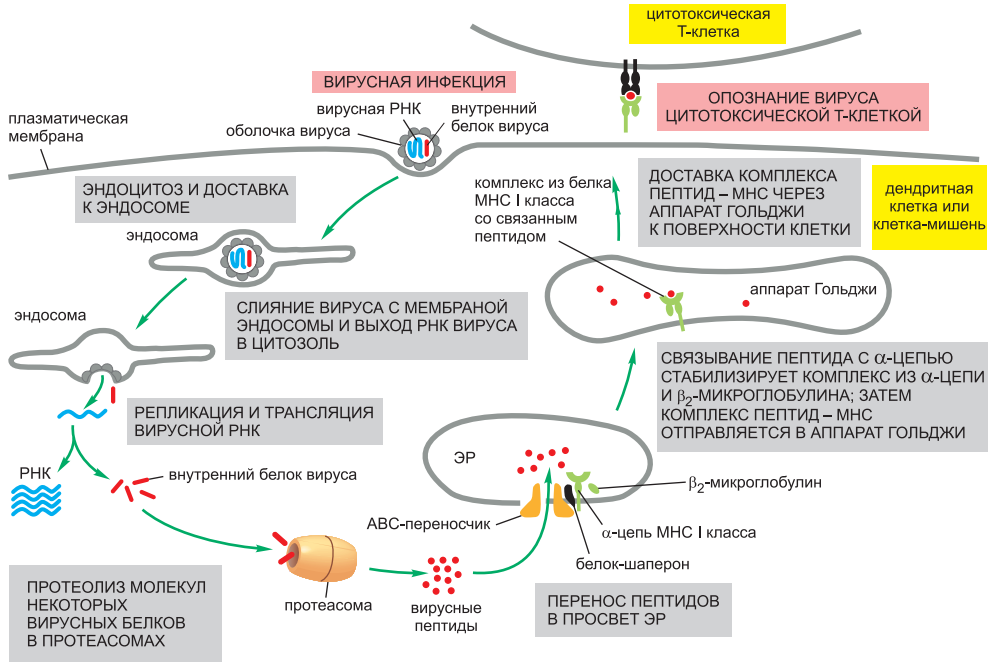


Рис. 25.59. Процессинг вирусного белка для представления цитотоксическим Т-клеткам. Любая эффекторная цитотоксическая Т-клетка убивает зараженную вирусом клетку, когда распознает фрагменты внутреннего белка вируса, связанные с белками МНС I класса на поверхности зараженной клетки. Не все вирусы проникают в клетку таким же способом, как этот РНК-вирус в оболочке, но фрагменты внутренних белков вируса всегда следуют по показанному на этом рисунке пути. Лишь малая доля вирусных белков, синтезируемых в цитозоле, подвергается деградации и транспортируется к поверхности клетки, но этого достаточно, чтобы зараженная клетка погибла под действием цитотоксической Т-клетки. Сборочиванию и сборке белков МНС I класса помогают несколько белков-шаперонов (показан только один из них) в просвете ЭР. Шапероны связываются с α -цепью белка МНС I класса и действуют последовательно. Последний связывает белок МНС с АВС-переносчиком, как показано на рисунке. Для сборки белков МНС I класса и их переноса к поверхности клетки необходимо связывание пептида.

Во всех клетках пептидные фрагменты образуются из собственных цитозольных и ядерных белков клетки, претерпевших деградацию в ходе нормального метаболизма белков и в результате действия механизмов контроля качества. (Что удивительно, более 30% белков, синтезируемых клетками млекопитающих, по-видимому, оказываются дефектными и вскоре после синтеза подвергаются деградации в протеасомах.) Эти пептиды постоянно закачиваются в ЭР и переносятся к поверхности клетки белками МНС I класса. Однако они не становятся антигенными, потому что цитотоксические Т-клетки, которые могли бы опознать их, были или устранены, или инактивированы, или подавлены регуляторными Т-клетками в процессе развития аутоагрессии (см. рис. 25.13).

Когда тот или иной антиген активирует цитотоксические Т-клетки или Т-хелперы T_H1 и те становятся эффекторными клетками, они начинают выделять цитокин **интерферон- γ (IFN γ)**, который значительно усиливает антивирусные реакции. IFN γ воздействует на зараженные вирусом клетки хозяина двумя способами: он блокирует репликацию вируса и увеличивает экспрессию многих генов в пределах

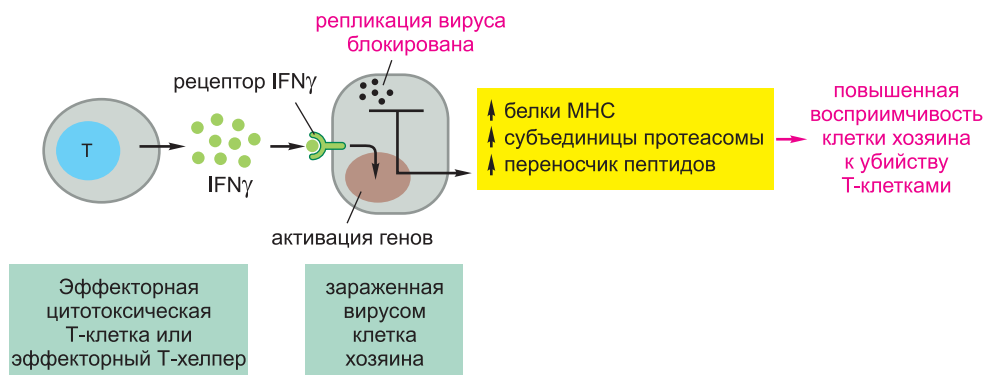


Рис. 25.60. Некоторые воздействия интерферона- γ (IFN γ) на зараженные вирусом клетки. Активированные рецепторы IFN γ посылают к ядру сигнал, изменяющий транскрипцию гена, что ведет к обозначенным здесь эффектам. В свете событий, показанных на желтом фоне, зараженная клетка, как правило, становится лучшей мишенью для эффекторных цитотоксических Т-клеток.

хромосомной области МНС. В число этих генов входят те, что кодируют белки МНС I класса, две специализированные субъединицы протеасом и две субъединицы переносчика пептидов, расположенного в ЭР (рис. 25.60). Таким образом, цитокин IFN γ согласованно запускает аппарат клетки хозяина, необходимый для представления вирусных антигенов цитотоксическим Т-клеткам; при этом образуется положительная обратная связь, которая усиливает иммунную реакцию и заканчивается смертью зараженной клетки.

25.4.13. Т-хелперы узнают связанные с белками МНС II класса фрагменты подвергнутого эндоцитозу чужеродного белка

В отличие от цитотоксических Т-клеток, Т-хелперы не убивают зараженные клетки напрямую. Вместо этого, они стимулируют макрофаги, чтобы те более эффективно разрушали внутриклеточные микроорганизмы, а также помогают В-клеткам и цитотоксическим Т-клеткам реагировать на микробные антигены.

Подобно вирусным белкам, представляемым цитотоксическим Т-клеткам, белки, представляемые Т-хелперам на поверхности дендритных клеток или клеток-мишеней, представляют собой фрагменты деградированных чужеродных белков. Такие фрагменты связаны с белками МНС II класса почти таким же образом, каким полученные из вирусов пептиды связаны с белками МНС I класса. Однако и источник представляемых пептидных фрагментов, и маршрут, по которому они перемещаются, чтобы найти белки МНС, в общем и целом отличаются.

Чужеродные пептиды, представляемые Т-хелперам, не образуются из чужеродного белка, синтезированного в цитозоле клетки, а берутся из эндосом. Одни происходят от внеклеточных микробов или их продуктов, которые антигенпрезентирующая клетка эндоцитировала и подвергла деградации в кислой среде своих эндосом. Другие образуются микробами, растущими в эндоцитозном компартменте антигенпрезентирующей клетки. В обоих случаях нет необходимости перекачивать пептиды через мембрану, потому что они производятся в компартменте, который топологически эквивалентен внеклеточному пространству. Вместо того чтобы войти в просвет ЭР, где синтезируются и собираются белки МНС II класса, эти

пептиды прямо в эндосомальном компартменте связываются с предварительно собранными гетеродимерами белков МНС II класса. При связывании пептида белок МНС II класса изменяет свою конформацию, захватывая пептид в связывающую бороздку и вынося его на поверхность клетки для представления Т-хелперам.

Новосинтезированный белок МНС II класса должен избежать преждевременно засорения его связывающей бороздки в просвете ЭР пептидами, накачиваемыми туда из цитозоля. Такую защиту гарантирует специальный полипептид, названный **инвариантной цепью**, посредством связывания в ЭР с недавно синтезированными гетеродимерами белков МНС II класса. Часть его полипептидной цепи лежит в пептидсвязывающей бороздке белка МНС и тем самым блокирует связывание пептидов бороздкой в просвете ЭР. Также инвариантная цепь направляет белки МНС II класса от *транс*-Гольджи-сети к позднеэндосомальному компартменту. Здесь протеазы расщепляют инвариантную цепь, оставляя в пептидсвязывающей бороздке белка МНС лишь короткий связанный фрагмент. Затем этот фрагмент высвобождается, освобождая белок МНС, чтобы тот мог связывать пептиды, полученные из эндоцитированных белков (рис. 25.61). Таким образом и обеспечиваются функциональные

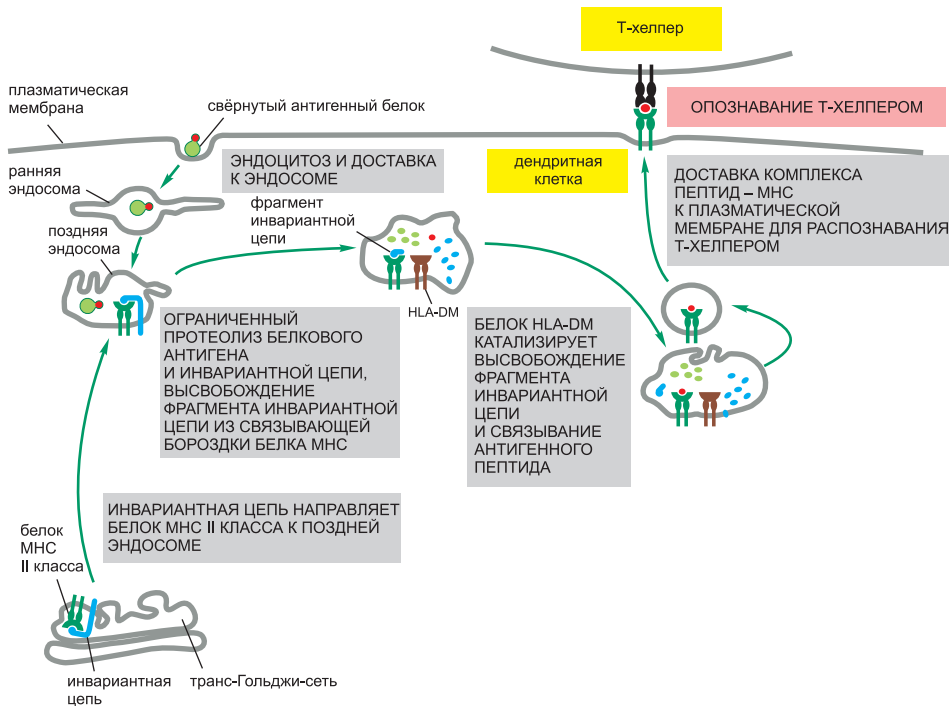


Рис. 25.61. Процессинг внеклеточного белкового антигена дендритной клеткой для представления Т-хелперу. На рисунке представлена упрощенная схема того, как комплексы пептид – белок МНС II класса образуются в эндосомах и доставляются на поверхность клетки. Обратите внимание, что высвобождение фрагмента инвариантной цепи из связывающей бороздки белка МНС II класса в эндосоме катализируется белком HLA-DM, подобным белкам МНС II класса. Таким способом могут быть процессированы также и вирусные гликопротеины для представления Т-хелперам. Эти белки вирусной оболочки обычно синтезируются в ЭР и затем встраиваются в плазматическую мембрану. Хотя большинство таких вирусных гликопротеинов будет включено в оболочку отпочковывающихся вирусных частиц, некоторые попадут в эндосомы в результате эндоцитоза, и таким образом будут презентированы с помощью белков МНС II класса.

различия между белками МНС I и II классов — первые главным образом презентуют молекулы, которые прибывают из цитозоля; последние по большей части презентуют молекулы, которые прибывают из эндоцитозного компартмента.

Однако такое разграничение между представлением антигена цитотоксическим Т-клеткам и Т-хелперам далеко не абсолютно. Например, дендритные клетки должны быть способны активировать цитотоксические Т-клетки для умерщвления зараженных вирусом клеток даже тогда, когда этот вирус не заражает сами дендритные клетки. Чтобы суметь это сделать, дендритные клетки прибегают к процессу так называемой **кросспрезентации**, который начинается, когда они фагоцитируют фрагменты зараженных вирусом клеток. Затем они активно транспортируют вирусные белки из фагосомы в цитозоль, где они деградируются в протеасомах; далее полученные фрагменты вирусных белков транспортируются в просвет ЭР, где загружаются на собирающиеся белки МНС I класса. Кросспрезентация в дендритных клетках служит также и средством активации цитотоксических Т-клеток против опухолевых антигенов раковых клеток и против белков МНС пересаженных чужеродных органов.

В связывающей бороздке большинства белков МНС I и II классов, выставленных на поверхности клетки-мишени, находятся пептиды, полученные из собственных белков. В случае белков МНС I класса фрагменты главным образом происходят из деградированных цитозольных и ядерных белков. В случае белков МНС II класса они в основном происходят из деградированных белков, которые появляются в плазматической мембране или во внеклеточной жидкости и эндоцитируются. Лишь малая доля из приблизительно 10^5 белков МНС II класса, находящихся на поверхности антигенпрезентирующей клетки, бывает связана с чужеродными пептидами. Однако этого вполне достаточно: даже одна-единственная копия комплекса пептид—МНС на поверхности дендритной клетки способна активировать Т-хелпер с TCR, связывающим такой комплекс с достаточно высоким сродством.

25.4.14. Потенциально полезные Т-клетки отбираются в тимусе

Мы видели, что Т-клетки узнают антиген, связанный со с собственными белками МНС, но никак не в комплексе с чужеродными белками МНС (см. рис. 5.57): то есть Т-клетки демонстрируют *МНС-рестрикцию*. Эта рестрикция является результатом процесса **позитивной селекции** во время развития Т-клеток в тимусе. В ходе этого процесса незрелые Т-клетки (*timoциты*), способные узнавать чужеродные пептиды, презентированные собственными белками МНС, отбираются для выживания и созревания, в то время как остальные (а их большинство), которые были бы бесполезны для животного, подвергаются апоптозу. Таким образом, МНС-рестрикция — это приобретенное свойство иммунной системы, которое проявляется, по мере того Т-клетки развиваются в тимусе.

Самый прямой способ изучения процесса селекции состоит в том, чтобы отслеживать путь дифференцировки группы развивающихся Т-клеток с известной специфичностью. Этого можно достичь, используя трансгенных мышей, которые экспрессируют определенную пару перестроенных α и β генов TCR, полученных от клона Т-клеток с известной специфичностью к антигену и к белку МНС. Такие эксперименты показывают, что трансгенные Т-клетки созревают в тимусе и заселяют вторичные лимфоидные органы только в том случае, если трансгенная мышь экспрессирует такую же аллельную форму белка МНС, что и узнаваемая трансгенным TCR. Если мышь не экспрессирует соответствующий белок МНС, то

трангенные Т-клетки умирают в тимусе. Таким образом, выживание и созревание всякой развивающейся Т-клетки зависит от соответствия между ее TCR и белками МНС, экспрессируемыми в тимусе (которые связаны с пептидами, полученными из собственных белков организма). Похожие эксперименты с трансгенными мышами, у которых экспрессия белка МНС ограничена клетками определенных типов в тимусе, указывают на то, что за такого рода позитивную селекцию отвечают белки МНС на поверхности эпителиальных клеток коры тимуса (рис. 25.62).

После позитивной селекции Т-клетки покидают тимус, их дальнейшее существование в виде наивных Т-клеток зависит от их непрерывной стимуляции комплексами собственных пептидов с МНС (а также цитокином *IL7*); этой стимуляции достаточно для поддержания жизни клетки, но недостаточно для активации пролиферации Т-клеток или их превращения в эффекторные клетки или в клетки памяти.

Сортировка развивающихся Т-клеток — это один из этапов процесса позитивной селекции в тимусе: те из них, что экспрессируют TCR, распознающие белки МНС I класса, отбираются для превращения в цитотоксические клетки, тогда как те, что экспрессируют TCR, узнающие белки МНС II класса, отбираются для превращения или в Т-хелперы, или в регуляторные клетки. Таким образом, у созданных методами генной инженерии мышей, у которых отсутствуют белки МНС I класса, специфически отсутствуют цитотоксические Т-клетки, тогда как мыши, у которых нет белков МНС II класса, не имеют ни Т-хелперов, ни регуляторных Т-клеток. Развитие регуляторных Т-клеток зависит от особых групп эпителиальных клеток в мозговом веществе тимуса, называемых *тельцами Гассалы*⁴.

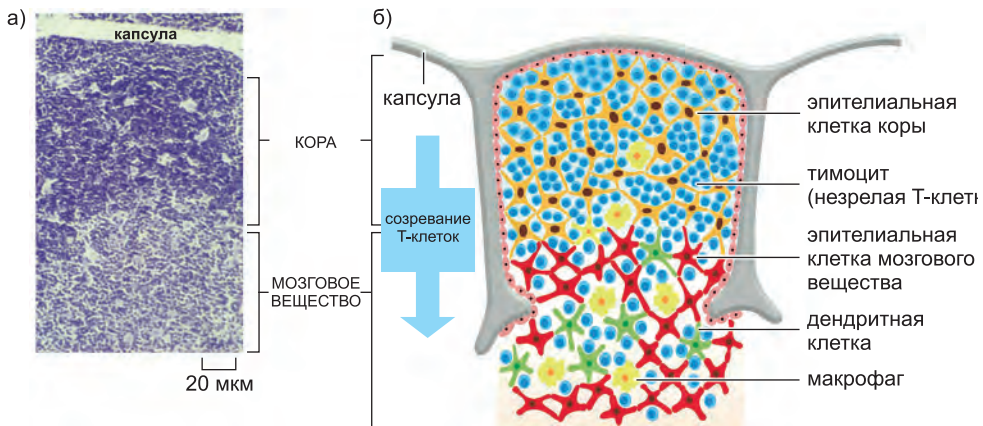


Рис. 25.62. Клеточная организация тимуса человека. а) На световом микрфотоснимке окрашенного среза одного сегмента тимуса видна внешняя кора (кортикальная область) и внутренняя мозговая область (медулярная область). б) Схематический рисунок сегмента, показывающий его клеточный состав. В коре находятся незрелые тимоциты, а в мозговом веществе — зрелые тимоциты. Тимоциты, макрофаги и дендритные клетки развиваются из клеток, мигрировавших в тимус из костного мозга. Функции этих разных областей и типов клеток мы разберем позже, когда будем обсуждать, как развивающиеся тимоциты отбираются для дальнейшего развития. Процессы селекции — причина апоптической гибели более 95% тимоцитов, произведенных в тимусе. Мертвые клетки быстро фагоцитируются и перевариваются макрофагами. (Получено на основе К. Murphy et al., *Janeway's Immunobiology*, 7th ed. New York: Garland Science, 2008.)

⁴ Тельца Гассалы (Hassall's corpuscles) описаны для тимуса человека. У мышей аналогичные структуры намного менее развиты и визуально не различимы без специального окрашивания. — Прим. ред.

Клетки, подвергаемые позитивной селекции, первоначально экспрессируют оба корцептора (и CD4, и CD8) — это необходимо для процесса отбора: без корцептора CD4 не смогут развиваться Т-хелперы и регуляторные Т-клетки, а без корцептора CD8 не смогут развиваться цитотоксические Т-клетки. В дальнейшем развитии цитотоксические Т-клетки теряют корцептор CD4, а Т-хелперы и регуляторные Т-клетки теряют корцептор CD8.

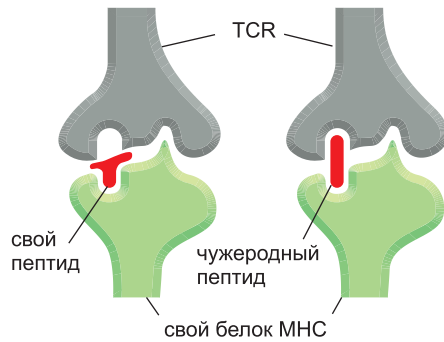
Позитивная селекция оставляет после себя одну серьезную проблему. Если развивающиеся цитотоксические Т-клетки и Т-хелперы с рецепторами, которые опознают собственные пептиды, ассоциированные с собственными белками МНС, созрели бы в тимусе и мигрировали к периферическим лимфатическим тканям, то они могли бы нанести вред организму. Во избежание такой катастрофы необходимо, чтобы в тимусе происходил процесс *негативной селекции*.

25.4.15. Большинство развивающихся цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов, способных к активации комплексами собственных МНС-пептидов, уничтожается в тимусе

Как упоминалось ранее, фундаментальная особенность системы приобретенного иммунитета состоит в том, что она может учиться отличать «своих» от «чужих» и обычно не реагирует против собственных молекул. Важным механизмом в достижении такого состояния иммунологической аутоотолерантности служит удаление в тимусе развивающихся аутореактивных цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов — то есть Т-клеток, TCR которых взаимодействует с комплексом собственного пептида и собственного белка МНС достаточно сильно для того, чтобы такое взаимодействие приводило к активации. Поскольку, как мы обсудим позже, для развития реакции на антиген большинству В-клеток требуется содействие Т-хелперов, устранение аутореактивных Т-хелперов помогает гарантировать также и то, что всякие аутореактивные В-клетки, уклонившиеся от механизмов, отвечающих за индукцию толерантности В-клеток, будут безопасны для организма (см. рис. 25.13).

Перед обсуждением процесса негативной селекции, приводящего к удалению аутореактивных Т-клеток в тимусе, полезно будет порассуждать о смысле двухступенчатой системы, приводящей к отбору небольшой фракции развивающихся Т-клеток, экспрессирующих TCR, которые связываются с собственными белками МНС, несущими собственные пептиды, но отнюдь не сильно, а слабо. Как показано на **рис. 25.63**, считается, что создание большого ассортимента таких Т-клеток гарантирует, что по крайней мере несколько Т-клеток будет способно сильно связываться с комплексом из чужеродного пептида с таким же белком МНС, тем самым запуская приобретенный иммунный ответ. Однако недостаточно, конечно, лишь того, чтобы в тимусе *отбирались* Т-клетки, которые опознают «свои» белки МНС; в ней должны также *отсеиваться* цитотоксические Т-клетки и Т-хелперы, которые могли бы активироваться «своими» белками МНС в комплексе со «своими» пептидами в периферических органах лимфатической системы. Общая цель может быть достигнута 1) гарантированной смертью цитотоксических Т-клеток и Т-хелперов, которые *сильно* связываются с комплексами собственных пептидов с собственным МНС в тимусе, 2) выживанием тех, что связываются с ними *слабо* и 3) допущением смерти тех, что *не* связываются вообще. Процесс 2 составляет главное звено только что рассмотренной нами позитивной селекции. Процесс 1 называют **негативной селекцией** или клональной делецией; она протекает в тимусе (см. рис. 25.13). Как

Рис. 25.63. Схематическое изображение того, как TCR, отобранный в ходе селекции в тимусе по той причине, что он слабо связывается с собственным белком МНС в комплексе с собственным пептидом, может сильно связаться с тем же белком МНС в комплексе с чужеродным пептидом. Поскольку собственный пептидный комплекс дает слабое связывание и в тимусе не имеется никакого чужеродного пептида, Т-клетка, экспрессирующая этот TCR, пройдет позитивную селекцию в тимусе и избежит негативной селекции.



в процессе 1, так и в процессе 3 клетки умирают апоптозом (рис. 25.64).

Наиболее убедительные данные в пользу негативной селекции в тимусе были получены опять же из экспериментов с трансгенными мышами. Например, введение трансгенов, кодирующих TCR, которые распознают специфический для мужского пола пептидный антиген, приводит к появлению большого числа зрелых Т-клеток, экспрессирующих трансгенный рецептор, и в тимусе, и в периферических органах лимфатической системы самок мышей, которые не экспрессируют этот пептид. Тогда как очень немногие из них обнаруживаются у самцов, у которых эти клетки умирают в тимусе прежде, чем получают шанс созреть. Как и в случае позитивной селекции, для осуществления негативной селекции необходимо взаимодействие TCR и корецептора CD4 или CD8 с соответствующим белком МНС. Однако, в отличие от позитивной селекции развивающихся Т-хелперов и цитотоксических Т-клеток, которая происходит главным образом на поверхности эпителиальных клеток в коре тимуса, негативная селекция этих клеток происходит в мозговой области тимуса, главным образом на поверхности дендритных клеток, которые представляют собой потомков клеток, мигрировавших в тимус из костного мозга.



25.4.16. Некоторые органспецифичные белки эктопически экспрессируются в медуллярной зоне тимуса

После открытия негативной селекции развивающихся Т-клеток в тимусе иммунологи задавались вопросом о том, каким образом Т-клетки избегают реакций против тех из собственных белков, что не присутствуют в тимусе в качестве образца. Одним из объяснений служит тот факт, что некоторые потенциально аутореактивные Т-клетки удаляются или функционально инактивируются после того, как покидают тимус. Это происходит, когда такие клетки опознают собственные пептиды, связанные с белками МНС на поверхности дендритных клеток, которые не были активированы патогенами и поэтому не обеспечивают надлежащих сигналов к активации. Это может также произойти посредством регуляторных Т-клеток на периферии, которые подавляют активность некоторых аутореактивных эффекторных Т-клеток. Эти два механизма служат примерами *периферической толерантности*, потому что, в отличие от удаления Т-клеток в тимусе (*центральная толерантность*), они проявляют себя уже после того, как Т-клетки покинут тимус (см. рис. 25.13).

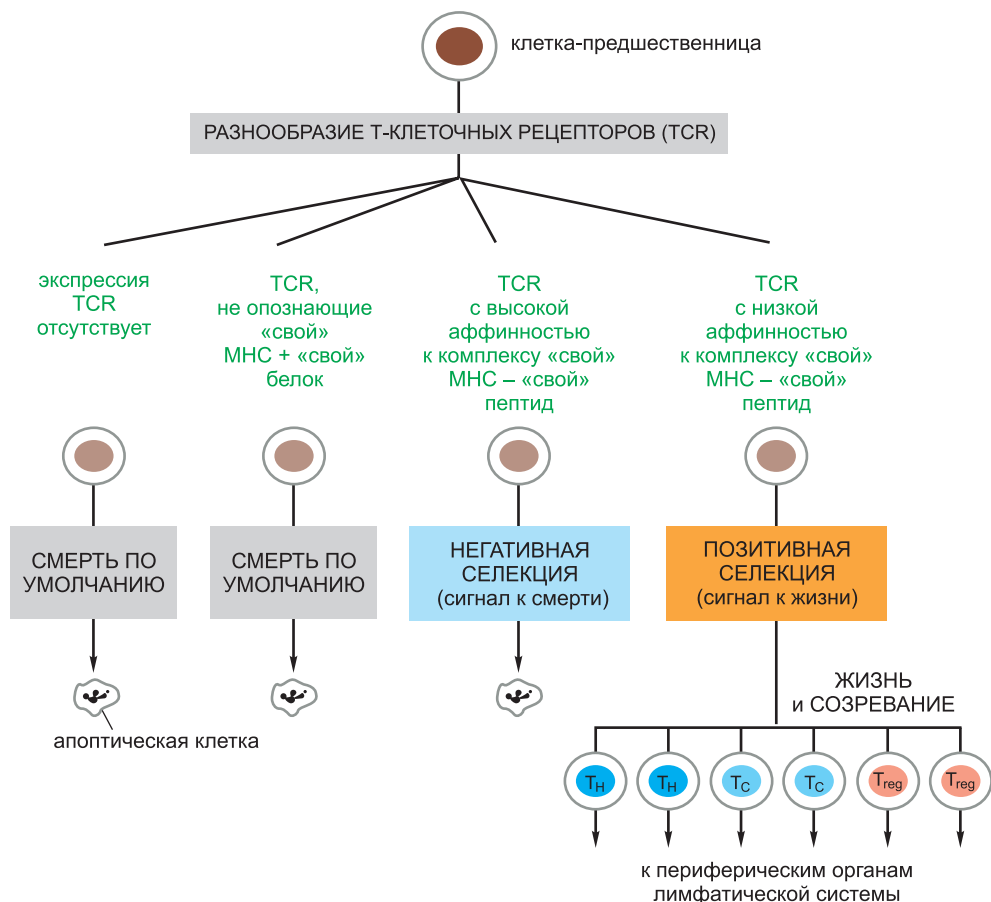


Рис. 25.64. Результат позитивной и негативной селекции в тимусе. Клетки с TCRs, которые позволили бы им реагировать на чужеродные пептиды, ассоциированные с собственными белками МНС (см. рис. 25.63), проходят позитивную селекцию: они выживают, созревают и мигрируют во вторичные лимфоидные органы. Все остальные клетки уходят в апоптоз: или потому, что они не экспрессируют TCR, которые распознают собственные белки МНС в комплексе с собственными пептидами, или потому, что они распознают такие комплексы слишком хорошо и подвергаются негативной селекции.

Хотя это и не показано на рисунке, клетки, проходящие позитивную селекцию, первоначально экспрессируют корецепторы CD4 и CD8. Механизм деления на Т-хелперы (T_H), цитотоксические Т-клетки (T_C) и регуляторные Т-клетки (T_{reg}) в процессе позитивной селекции плохо изучен. Но в результате этого процесса Т-хелперами и регуляторными клетками становятся те лимфоциты, которые экспрессируют корецептор CD4, не экспрессируют корецептор CD8 и узнают пептиды, связанные с белками МНС II класса, тогда как цитотоксическими клетками становятся те, что экспрессируют корецептор CD8, не экспрессируют корецептор CD4 и узнают пептиды, связанные с белками МНС I класса.

Недавно было найдено третье объяснение. Находящиеся в медуллярной области тимуса эпителиальные клетки особого класса эктопически экспрессируют белки, о которых ранее полагали, что они экспрессируются лишь в определенных органах, то есть вне тимуса: инсулин, например, вырабатываемый β -клетками поджелудочной железы, производится также и маленькой субпопуляцией эпителиальных клеток мозгового вещества тимуса. Эктопическая экспрессия многих из таких белков, в том

числе инсулина, зависит от ядерного белка, названного *аутоиммунным регулятором* (AIRE, *autoimmune regulator*), который целенаправленно экспрессируется в тех же эпителиальных клетках медуллярной зоны тимуса. Инактивация гена, кодирующего AIRE в организме мыши или человека, приводит к серьезному системному аутоиммунному заболеванию, что показывает всю значимость AIRE-зависимой центральной толерантности к по крайней мере некоторым тканеспецифичным собственным белкам. Каким образом AIRE осуществляет такую эктопическую экспрессию генов в мозговом веществе тимуса, остается загадкой⁵.

25.4.17. Функция белков МНС объясняет присущий им полиморфизм

Роль белков МНС в связывании чужеродных пептидов и представлении их Т-клеткам помогает объяснить богатый полиморфизм этих белков. В эволюционной войне между патогенами и системой приобретенного иммунитета патогены стремятся изменять свои антигены, чтобы избежать связывания с белками МНС. Когда патоген преуспевает в этом, он проносится по популяции губительной эпидемией. При таких обстоятельствах те немногие индивидуумы, которые производят новый белок МНС, способный связываться с антигеном видоизмененного патогена, имеют большое преимущество в борьбе за жизнь. Кроме того, индивидуумы с двумя разными аллелями в любом из локусов белков МНС (гетерозиготы) имеют больше шансов сопротивляться инфекции, чем индивидуумы с идентичными аллелями в том же локусе, поскольку обладают большими возможностями представлять пептиды широкого спектра патогенов. Таким образом, данный отбор имеет тенденцию к приумножению и поддержанию большого разнообразия белков МНС в популяции. Подтверждение представления о том, что инфекционные болезни были движущей силой для полиморфизма белков МНС, было получено в ходе исследований в Западной Африке. В этом регионе индивидуумы с определенным аллелем МНС обладают пониженной восприимчивостью к серьезной форме малярии. Хотя во всех остальных местах земного шара этот аллель редок, он встречается у 25% населения Западной Африки, где распространена эта форма малярии.

Если большее разнообразие белков МНС означает более высокую сопротивляемость инфекции, то почему мы все имеем так мало генов МНС, кодирующих эти молекулы? Почему мы не развили стратегии увеличения разнообразия белков МНС, к примеру, посредством альтернативного сплайсинга РНК или с помощью механизмов генетической рекомбинации, используемых для увеличения разнообразия антител и TCR? Одна из причин ограниченного разнообразия белков МНС в организме индивидуума может состоять в том, что при всяком добавлении в ассортимент белков МНС нового экземпляра появляется необходимость устранять Т-клетки с TCR, которые сильно связываются с собственными пептидами в комплексе с новым белком МНС, чтобы поддерживать ауто толерантность. Устранение этих Т-клеток нейтрализовало бы преимущество от добавления нового белка МНС. Таким образом, число белков МНС, которые мы экспрессируем, как полагают, от-

⁵ Имеющиеся на конец 2012 года данные определенно указывают на то, что AIRE является транскрипционным регулятором, непосредственно входящим в состав мультибелковых комплексов, напрямую регулирующих активность генов-мишеней AIRE. Следует также иметь в виду, что транскрипционное профилирование клеток тимусного эпителия обнаруживает в них мозаичную активность множества других тканеспецифических генов, которые не зависят от AIRE и механизм эктопической экспрессии которых в тимусе вовсе не изучен. — *Прим. ред.*

ражает равновесие между преимуществами от представления широкого разнообразия чужеродных пептидов Т-клеткам и неудобствами от значительного урезания ассортимента Т-клеток в ходе негативной селекции в тимусе. Исследования при помощи компьютерного моделирования подтверждают справедливость такого объяснения.

Заключение

Существует три различных в функциональном отношении основных класса Т-клеток. Цитотоксические Т-клетки напрямую убивают зараженные клетки, побуждая их подвергнуться апоптозу. Т-хелперы помогают стимулировать В-клетки к выработке антител, цитотоксические Т-клетки — на умерщвление своих клеток-мишеней, дендритные клетки — к стимуляции Т-клеточных реакций, а макрофаги — к уничтожению микроорганизмов, которые проникли в них или же были поглощены ими. Наконец, регуляторные Т-клетки подавляют активность эффекторных Т-клеток и дендритных клеток, в силу чего крайне важны для ауто толерантности.

Все Т-клетки экспрессируют подобные антителам рецепторы клеточной поверхности (TCR), которые кодируются генами, собранными из многочисленных генных сегментов в ходе развития Т-клеток в тимусе. TCR опознают фрагменты чужеродных белков, представленные на поверхности клеток хозяина в комплексе с белками МНС. Т-клетки активируются во вторичных лимфоидных органах антигенпрезентирующими клетками, которые экспрессируют на своей поверхности комплексы вида пептид—МНС, костимулирующие белки и различные молекулы межклеточной адгезии. Наиболее действенные из таких антигенпрезентирующих клеток — дендритные клетки, которые специализированы для представления антигена и необходимы для активации наивных Т-клеток.

Ключевую роль в представлении чужеродных белковых антигенов Т-клеткам играют белки МНС I и II классов: белки МНС I класса представляют антигены цитотоксическим Т-клеткам, а белки МНС II класса представляют их Т-хелперам и регуляторным Т-клеткам. Если белки МНС I класса экспрессируются на поверхности почти всех клеток позвоночных, то белки МНС II класса обычно ограничиваются теми типами клеток, такими как дендритные клетки, макрофаги и В-лимфоциты, которые взаимодействуют с Т-хелперами.

Белки МНС обоих классов имеют одну пептидсвязывающую бороздку, которая связывает маленькие пептидные фрагменты, полученные из белков. Каждый белок МНС может связывать большой набор пептидов, которые постоянно производятся внутри клетки за счет естественных процессов деградации белка. Однако белки МНС I класса главным образом связывают фрагменты, произведенные в цитозоле, в то время как белки МНС II класса главным образом связывают фрагменты, произведенные в эндоцитозных компартментах. После завершения формирования в клетке-мишени комплексы пептид—МНС выводятся на ее поверхность. Те комплексы, что содержат какой-либо пептид, полученный из чужеродного белка, опознаются Т-клеточными рецепторами, которые взаимодействуют и с пептидом, и со стенками пептидсвязывающей бороздки белка МНС. Кроме TCR Т-клетки экспрессируют корецепторы CD4 и CD8, которые в то же время распознают неполиморфные области белков МНС на поверхности антигенпрезентирующей клетки или клетки-мишени: Т-хелперы и регуляторные клетки экспрессируют корецептор CD4, который

узнает белки МНС II класса, тогда как цитотоксические Т-клетки экспрессируют рецептор CD8, который узнает белки МНС I класса.

В ходе развития Т-клеток в тимусе протекают процессы позитивной и негативной селекции, призванные сформировать ассортимент TCR. Эти процессы гарантируют, что выживать и созреть будут только Т-клетки с потенциально полезными рецепторами, в то время как все остальные будут умирать в результате апоптоза. Сначала проходят положительную селекцию такие Т-клетки, которые могут реагировать на пептиды в комплексе с собственными белками МНС, а затем уничтожаются те Т-клетки из этой группы, которые могут сильно реагировать на собственные пептиды в комплексе с собственными белками МНС. Т-хелперы и цитотоксические Т-клетки, которые покидают тимус с рецепторами, способными реагировать со «своими» антигенами, устраняются, функционально инактивируются или активно подавляются в момент распознавания «своих» антигенов на неактивированных дендритных клетках.

25.5. Т-хелперы и активация лимфоцитов

Т-хелперы, по всей видимости, самые важные из клеток системы приобретенного иммунитета, ибо они необходимы для протекания почти всех реакций приобретенного иммунитета. Они помогают активировать В-клетки для выделения антител и помогают макрофагам уничтожать поглощенные патогены. Кроме того, они (по крайней мере отчасти) способствуют активации цитотоксических Т-клеток для умерщвления зараженных клеток-мишеней, стимулируя дендритные клетки, чтобы те активировали наивные цитотоксические клетки более эффективно. Как об этом драматично свидетельствуют данные о больных СПИДом, без Т-хелперов мы не можем защитить себя даже от тех микробов, которые в норме абсолютно безвредны.

Однако сами по себе Т-хелперы могут начать функционировать только в том случае, если они будут активированы и превратятся в эффекторную клетку. Наивные Т-хелперы активируются на поверхности дендритных клеток, которые, в свою очередь, активируются в ходе реакций врожденного иммунитета, вызываемых инфекцией. Наряду с этим, реакции врожденного иммунитета, в основном через активированные дендритные клетки, задают тип эффекторных клеток, которые будут развиваться из Т-хелперов, тем самым определяя характер вызываемых иммунных реакций.

В этом заключительном разделе мы обсудим многочисленные сигналы, помогающие активировать Т-клетку, и поговорим о том, как, будучи активированным для превращения в эффекторную клетку, Т-хелпер начинает помогать активировать другие клетки. Кроме того, мы рассмотрим принцип, согласно которому реакции врожденного иммунитета могут определять характер реакций приобретенного иммунитета за счет стимуляции дифференцировки Т-хелперов в эффекторные клетки различного типа. Наконец, мы поговорим о вероятном эволюционном происхождении суперсемейства иммуноглобулиновых белков, куда входят белки МНС, антитела и Т-клеточные рецепторы.

25.5.1. Активированные дендритные клетки используют множество механизмов для активации Т-клеток

Когда дендритная клетка активируется в ходе заражения, она изменяет свою форму и миграционное поведение, увеличивает количество представленных на ее поверхности молекул МНС, активирует свои пути процессинга антигенов и начинает

вырабатывать мембраносвязанные костимулирующие белки и секретируемые цитокины (включая хемокины). Эти впечатляющие изменения позволяют дендритной клетке мигрировать к периферическому органу лимфатической системы и активировать превращение наивных Т-клеток в эффекторных клетки.

Дендритная клетка вначале посылает Т-клетке сигналы через TCR, которые связываются с чужеродным пептидом в комплексе с белком МНС II класса на поверхности дендритной клетки. Однако TCR передает сигнал в Т-клетку не единолично. Ему помогает комплекс инвариантных трансмембранных белков **CD3**, с которым TCR связан (рис. 25.65). Более того, корецептор CD4 (на Т-хелпере или регуляторной Т-клетке) и корецептор CD8 (на цитотоксической Т-клетке) связываются с тем же белком МНС, что и TCR, и тоже участвуют в передаче сигнала, как показано на рис. 25.66.

Помимо передачи сигналов через TCR и связанные с ним белки и корецепторы, костимулирующие белки на поверхности дендритной клетки связываются с другими рецепторами на поверхности Т-клетки и обеспечивают тем самым передачу дальнейших сигналов, необходимых для активации Т-клетки. Среди таких костимуляторных белков на активированной дендритной клетке — белки **B7**, которые узнаются корецепторным белком **CD28** на поверхности Т-клетки. Будучи активированным, Т-хелпер сам экспрессирует костимулирующий белок *CD40-лиганд*, который оказывает ответное действие на рецепторы *CD40* на поверхности дендритной клетки, увеличивая и поддерживая активацию дендритной клетки и образуя таким образом положительную обратную связь, которая усиливает реакцию Т-клетки.

Связавшись с поверхностью дендритной клетки, Т-клетка увеличивает силу связи, активируя белок адгезии интегрин, который после этого сильнее связывается со своим Ig-подобным лигандом на поверхности дендритной клетки. Такая усиленная адгезия позволяет Т-клетке оставаться связанной с антигенпрезентирующей клеткой достаточное для активации время.

Эта начальная передача сигналов через Т-клеточные рецепторы и связанные с ними белки запускает активную сборку **иммунологического синапса** в зоне контакта между Т-клеткой и дендритной клеткой. В таких напоминающих яблочко мишени структурах TCR и связанные с ними субъединицы комплекса CD3, корецепторы и внутриклеточные сигнальные белки группируются в центре, а белки межклеточной адгезии формируют окружающее их кольцо. Подобные структуры формируются, когда эффекторный Т-хелпер или эффекторная цитотоксическая клетка взаимодействует со своей клеткой-мишенью. Не

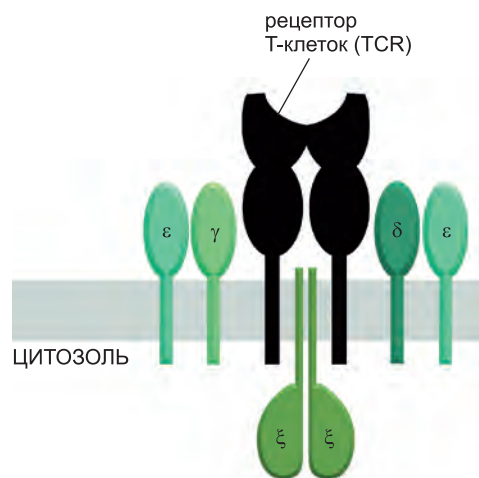


Рис. 25.65. TCR и связанный с ним комплекс CD3. Все полипептидные цепи комплекса CD3 (показаны зеленым), за исключением ζ- (зета) цепей, имеют внеклеточные Ig-подобные домены и поэтому являются членами суперсемейства Ig. Все четыре типа полипептидных цепей комплекса CD3 образуют гетеродимеры или гомодимеры (как показано) и быстро фосфорилируются по остаткам тирозина в своих внутриклеточных доменах вслед за активацией TCR (не показано). Впоследствии некоторые из таких фосфорилированных тирозинов служат местами докинга для внутриклеточных сигнальных белков, как показано на рис. 25.66.

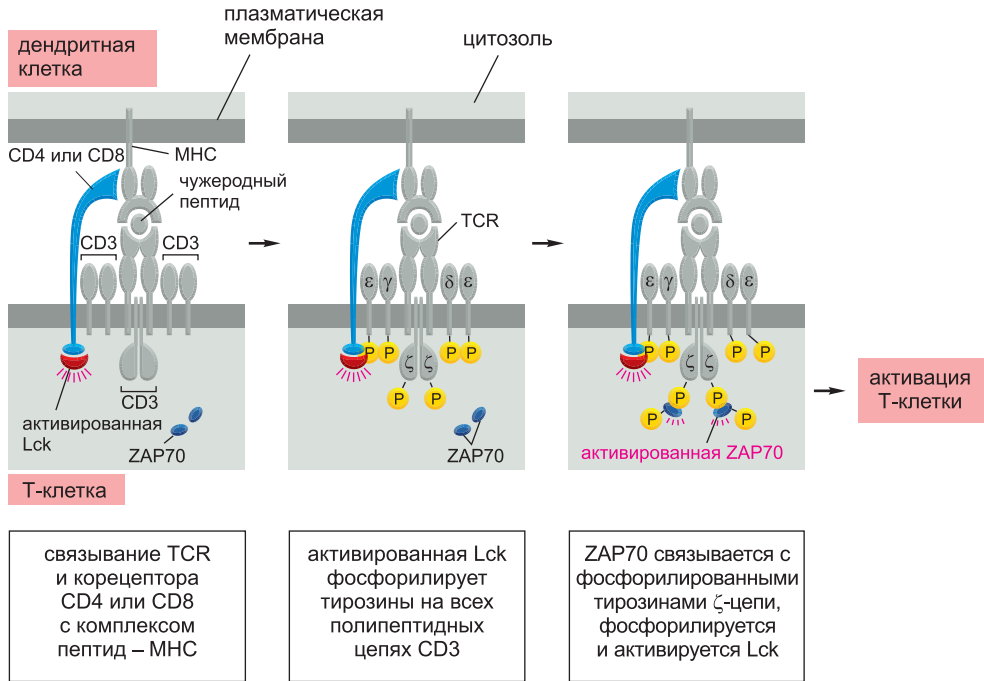


Рис. 25.66. Сигнальные процессы, запускаемые связыванием комплексов вида пептид–MHC с TCR. Когда TCR (и комплекс CD3) группируются, связываясь с комплексами пептид–MHC на активированной дендритной клетке, молекулы корецептора CD4 (на Т-хелперах) или молекулы корецептора CD8 (на цитотоксических Т-клетках) группируются с ними, связываясь с инвариантными частями тех же белков MHC соответственно II или I классов, находящихся на поверхности дендритной клетки. В результате Src-подобная цитоплазматическая тирозинкиназа Lck попадает в сигнальный комплекс и активируется. Активация тирозинкиназы Lck зависит также и от присутствующей на поверхности Т-клетки трансмембранной тирозинфосфатазы CD45, которая удаляет с тирозинкиназы Lck ингибирующие фосфаты (не показано). Будучи активированной, тирозинкиназа Lck запускает каскад фосфорилирования тирозинов, фосфорилируя тирозины на всех цепях комплекса CD3. Затем фосфотирозины на ζ -цепи комплекса CD3 становятся местами докинга для еще одной цитоплазматической тирозинкиназы ZAP70. Тирозинкиназа Lck фосфорилирует и тем самым активирует тирозинкиназу ZAP70. Хотя это и не показано на рисунке, далее тирозинкиназа ZAP70 фосфорилирует тирозины на хвосте другого трансмембранного белка (называемого LAT), которые после этого становятся местами докинга для множества адапторных белков и ферментов. Эти белки, в свою очередь, помогают передавать сигнал к ядру и другим частям клетки, активируя инозитолфосфолипидный и MAP-киназный сигнальные пути (мы обсуждали их в главе 15), а также GTPазу семейства Rho, которая регулирует актиновый цитоскелет (о ней мы говорили в главе 16).

все TCR в синапсе связаны с чужеродным пептидом в комплексе с белком MHC; некоторые связаны сильнее пептидом, связанным с белком MHC, и такие TCR тоже вносят вклад в активацию Т-клетки (вспомним, что все Т-клетки первоначально проходят позитивную селекцию в тимусе по критерию их слабого опознавания комплексов вида собственный пептид–MHC).

Вышеописанные совместные действия различных сигналов стимулируют пролиферацию Т-хелперов и их дифференцировку в эффекторные клетки при помощи на удивление непрямого механизма. Эти сигналы заставляют Т-клетки стимулировать свою собственную пролиферацию и дифференцировку, запуская секрецию цитокина,

называемого **интерлейкином-2 (IL2)**, и одновременный синтез высокоаффинных поверхностных рецепторов, которые его связывают. Связывание IL2 с рецепторами IL2 активирует внутриклеточные сигнальные пути, которые включают гены, помогающие пролиферации Т-клеток и их дифференцировке в эффекторные клетки (рис. 25.67). Несмотря на то что некоторые Т-клетки не вырабатывают IL2, как только они будут активированы своим антигеном и поэтому начнут экспрессировать рецепторы IL2, их пролиферации и дифференцировке сможет способствовать IL2, выделяемый соседними активированными Т-клетками. IL2 играет также важную роль в развитии регуляторных Т-клеток в тимусе: оказалось, что без него эти клетки не развиваются.

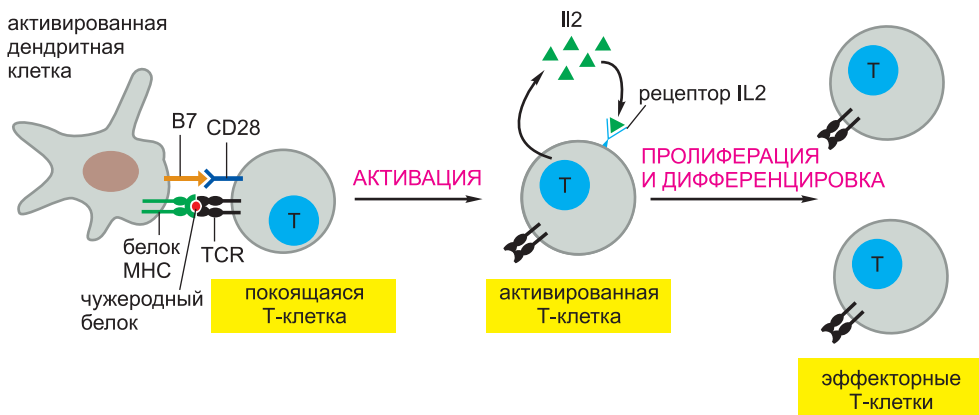


Рис. 25.67. Стимуляция Т-клеток интерлейкином IL2. Эта модель применима и к Т-хелперам, и к цитотоксическим Т-клеткам, по крайней мере в культуре. Сочетание комплексов пептид–МНС костимулирующих белков B7 (либо B7-1, либо B7-2; называемых также CD80 и CD86 соответственно) на поверхности активированной дендритной клетки помогает стимулировать покоящуюся Т-клетку на выработку высокоаффинных рецепторов IL2 и на выделение IL2. После этого связывание интерлейкина IL2 с его рецепторами помогает стимулировать пролиферацию Т-клеток и их дифференцировку в эффекторные клетки. Различные белки, связанные с TCR (см. рис. 25.65), не показаны.

Дендритные клетки важны не только для активации Т-клеток, но также и для инактивации или устранения аутореактивных Т-клеток. Когда Т-клетки опознают комплексы «свой» пептид–«свой» белок МНС на поверхности дендритных клеток, которые не были активированы каким-либо патогеном, они или инактивируются, так что более не реагируют на те же комплексы пептид–МНС даже на активированных дендритных клетках, или быстро делятся и затем умирают апоптозом. Оба этих механизма — клональная инактивация и клональная делеция — вносят вклад в периферическую ауто толерантность. Дендритные клетки также вносят свой вклад в периферическую ауто толерантность, активируя регуляторные Т-клетки, которые затем подавляют активность аутореактивных эффекторных Т-клеток, хотя детали того, как дендритные клетки выборочно активируют регуляторные Т-клетки, изучены еще плохо (см. рис. 25.13).

25.5.2. Активация Т-клеток находится под контролем отрицательной обратной связи

В процессе многостадийной активации Т-клетки клетка начинает экспрессировать белок клеточной поверхности *CTLA4*, который ингибирует внутриклеточную

передачу сигналов. Этот белок напоминает CD28 и, подобно CD28, связывается с белками В7 на поверхности активирующей дендритной клетки (см. рис. 25.67). Белок CTLA4 связывает белки В7 с намного более высоким сродством, чем это делает CD28, при этом блокируя активирующее действие CD28, тем самым обеспечивая отрицательную обратную связь, которая держит процесс активации под контролем. Так, мыши с нарушенным геном *Ctla4* умирают от массового накопления активированных Т-клеток.

В **таблице 25.3** описаны некоторые из рассмотренных нами корецепторов и других дополнительных белков, представленных на поверхности Т-клеток.

Большинство эффекторных Т- (и В-) клеток, возникающих во время иммунного ответа, должно быть устранено по окончании своей работы. Хотя большинство клеток умирает апоптозом, внеклеточные механизмы, ответственные за их устранение, изучены еще очень плохо. Один из вариантов заключается в том, что, когда уровни антигена падают и реакция затухает, эффекторные Т-клетки лишаются стимуляции антигеном и цитокинами, которая им необходима для поддержания

Таблица 25.3. Некоторые вспомогательные белки на поверхности Т-клеток

| БЕЛОК* | СУПЕРСЕМЕЙСТВО | ЭКСПРЕССИРУЕТСЯ НА ПОВЕРХНОСТИ | ЛИГАНД НА ПОВЕРХНОСТИ КЛЕТКИ-МИШЕНИ | ФУНКЦИИ |
|--------------|------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|--|
| комплекс CD3 | Ig (за исключением ζ) | всех Т-клеток | — | помогает передавать сигнал, когда комплексы антиген – МНС связываются с TCR; участвует в переносе TCR на клеточную поверхность |
| CD4 | Ig | Т-хелперов, регуляторных Т-клеток | МНС II класса | способствует связыванию с дендритными клетками и клетками-мишенями; передает сигналы Т-клетке |
| CD8 | Ig | цитотоксических Т-клеток | МНС I класса | способствует связыванию с дендритными клетками и зараженными клетками-мишенями; передает сигналы Т-клетке |
| CD28 | Ig | большинства Т-клеток | белки В7 (CD80 и CD86) | помогает активировать Т-клетки |
| CTLA4 | Ig | активированных Т-клеток | белки В7 (CD80 и CD86) | тормозит активацию Т-клеток |
| CD40-лиганд | семейство Fas-лигандов | эффекторных Т-хелперов | CD40 | костимулирующий белок, помогающий активировать макрофаги, В-клетки и дендритные клетки |

*Сокращение CD означает «кластер дифференцировки» (cluster of differentiation), поскольку каждый из белков CD был первоначально определен как «антиген дифференцировки» клеток крови, опознаваемый множеством моноклональных антител. Их идентификация стала результатом крупномасштабной совместной работы, в которой было проведено антитела к белкам сотен видов таких антител, полученных во многих лабораториях, которое показало, что антитела к белкам CD представлены относительно небольшим количеством групп (или «кластеров»), члены каждой из которых опознают какой-то один белок клеточной поверхности. Однако со времени тех первых исследований было идентифицировано свыше 240 белков CD.

жизни; тогда остаются жить лишь клетки памяти и некоторые долгоживущие эффекторные клетки. Однако гибель эффекторных Т-клеток происходит не исключительно по причине отключения сигналов выживания. К примеру, в случае эффекторных цитотоксических Т-клеток важную роль в индукции их смерти играет цитокин *интерферон- γ* ($IFN\gamma$); поскольку эффекторные цитотоксические Т-клетки сами вырабатывают $IFN\gamma$ (см. рис. 25.60), это пример еще одной разновидности отрицательной обратной связи.

Прежде чем обсудить, как именно эффекторные Т-хелперы помогают активировать макрофаги и В-клетки, мы должны рассмотреть два различимых в функциональном отношении основных подкласса эффекторных Т-хелперов, клетки T_H1 и T_H2 , и поговорить об особенностях их возникновения.

25.5.3. Подкласс эффекторного Т-хелпера определяет характер приобретенного иммунного ответа

Когда активированная дендритная клетка активирует наивный Т-хелпер во вторичном лимфоидном органе, последний обычно дифференцируется в эффекторный Т-хелпер T_H1 или T_H2 . Результат зависит от сродства TCR к комплексу пептид–МНС, от плотности этого комплекса на поверхности дендритной клетки и от природы самой дендритной клетки.

Эффекторные Т-хелперы двух основных подклассов можно различить по выделяемым ими цитокинам. **T_H1 -клетки** главным образом секретируют $IFN\gamma$ и *фактор некроза опухолей* (TNF), которые активируют макрофаги, чтобы те убивали микробов, находящихся внутри их фагосом. Также они помогают активировать цитотоксические Т-клетки на умерщвление зараженных клеток. Таким образом, T_H1 -клетки прежде всего защищают животное от внутриклеточных микробов. Однако вместе с тем они стимулируют В-клетки к выработке определенных подклассов антител IgG (которые могут покрывать внеклеточных микробов и активировать систему комплемента), тем самым помогая устранять также и некоторых внеклеточных микробов.

T_H2 -клетки, напротив, главным образом защищают животное от внеклеточных патогенов, включая микробов и многоклеточных паразитов. Они выделяют множество цитокинов, включая *интерлейкины 4 и 10* ($IL4$ и $IL10$), и помогают стимулировать В-клетки к выработке большинства классов антител, включая IgM, IgA, IgE и некоторые подклассы IgG. Некоторые из этих антител связываются с тучными клетками, базофилами и эозинофилами; будучи активированы путем связывания антигена, эти клетки высвобождают локальные медиаторы, которые становятся причиной чихания, кашля или поноса, таким образом помогая сгонять внеклеточных микробов и более крупных паразитов с эпителиальных поверхностей организма.⁶

Таким образом, выбор наивных Т-хелперов — дифференцироваться ли им в эффекторные T_H1 - или T_H2 -клетки, — влияет на тип приобретенного иммунного ответа, который животное развивает против патогена, то есть на то, будет ли в нем преобладать активация макрофагов или выработка антител. Специфические цитокины, вырабатываемые в ходе активации Т-хелперов, оказывают важное влияние на

⁶ Следует понимать, что разнообразие Т-хелперов не ограничивается T_H1 и T_H2 клетками. Например, в конце этого раздела кратко описаны T_H17 , стимулирующие нейтрофилы на борьбу с внеклеточными патогенами. Они секретируют интерлейкины 21, 22 и 17 (благодаря чему и получили название T_H17). Не исключено, что к моменту, когда Вы читаете эти строки, будет выделено и описано еще несколько новых типов Т-хелперов. — *Прим. ред.*

тип производимых эффекторных клеток. Например, некоторые внутриклеточные бактерии стимулируют дендритные клетки к выделению интерлейкина 12 (IL12), который вызывает развитие T_H1 -клеток и тем самым активацию макрофагов. Как и следовало ожидать, мыши с отсутствием или самого IL12, или его рецептора намного более восприимчивы к подобным бактериальным инфекциям, чем нормальные мыши. Многие паразитические простейшие и черви, напротив, стимулируют дендритную клетку на экспрессию белка *Jagged* на своей поверхности. Белок *Jagged* представляет собой активирующий лиганд для *Notch-рецепторов* (обсуждалось в главах 15 и 22) на поверхности Т-клетки, поэтому запускаемый им сигнальный путь *Notch* помогает индуцировать развитие T_H2 -клеток и производство интерлейкина 4 (IL4). T_H2 -клетки и IL4 помогают стимулировать производство антител и активацию эозинофилов, что ведет к изгнанию паразита (рис. 25.68). Вдобавок к этому IL4 создает положительную обратную связь, поскольку представляет собой мощный индуктор развития T_H2 -клеток.

Как только эффекторная T_H1 - или T_H2 -клетка разовьется, она ингибирует дифференцировку Т-хелперов другого типа. Так, интерферон IFN γ , выделяемый T_H1 -клетками, ингибирует развитие T_H2 -клеток, тогда как интерлейкины IL4 и IL10, производимые T_H2 -клетками, ингибируют развитие T_H1 -клеток. Таким образом, по мере дальнейшего течения реакции происходит закрепление первоначального выбора посредством влияния на реакцию других Т-клеток, находящихся где-то поблизости.

О значимости выбора $T_H1 \leftrightarrow T_H2$ можно судить по больным, зараженным *Mycobacterium leprae* — бактерией, которая вызывает проказу (лепру). Эта бактерия реплицируется главным образом внутри макрофагов и вызывает одну из двух форм болезни в зависимости от генетических особенностей зараженного индивидуума. У некоторых пациентов развивается *туберкулоидная* форма этой болезни. При ней развиваются T_H1 -клетки и стимулируют зараженные макрофаги к убийству бактерий. Это становится причиной местной воспалительной реакции, которая повреждает кожу и нервы. Результат — хроническая болезнь, которая медленно прогрессирует, но не убивает хозяина. У других пациентов, напротив, развивается *лепроматозная* форма болезни. В данном случае развиваются T_H2 -клетки и стимулируют выработку антител. Поскольку антитела не могут пройти через плазматическую мембрану, чтобы атаковать внутриклеточные бактерии, те беспрепятственно размножаются и в конечном счете убивают хозяина. По неизвестным причинам при лепроматозной форме этой болезни имеет место также общее подавление Т-клеточного иммунитета к большинству антигенов.

Наивные Т-хелперы могут развиваться также в эффекторные клетки недавно описанного третьего типа, получившие название *T_H17 -клеток*, потому что они экспрессируют провоспалительный интерлейкин *IL17*. T_H17 -клетки помогают защищаться от внеклеточных патогенов, но вместе с тем играют важную роль в развитии многих аутоиммунных заболеваний. Они развиваются, когда некоторые наивные Т-хелперы активируются антигеном в присутствии белка TGF β и интерлейкина IL6.

25.5.4. T_H1 -клетки активируют зараженные макрофаги и стимулируют воспалительный ответ

Макрофаги и дендритные клетки поглощают патогены и их продукты в очагах заражения. Дендритные клетки активируются и несут микробные антигены во вторичный лимфоидный орган, где они предпочтительно вызывают развитие T_H1 -

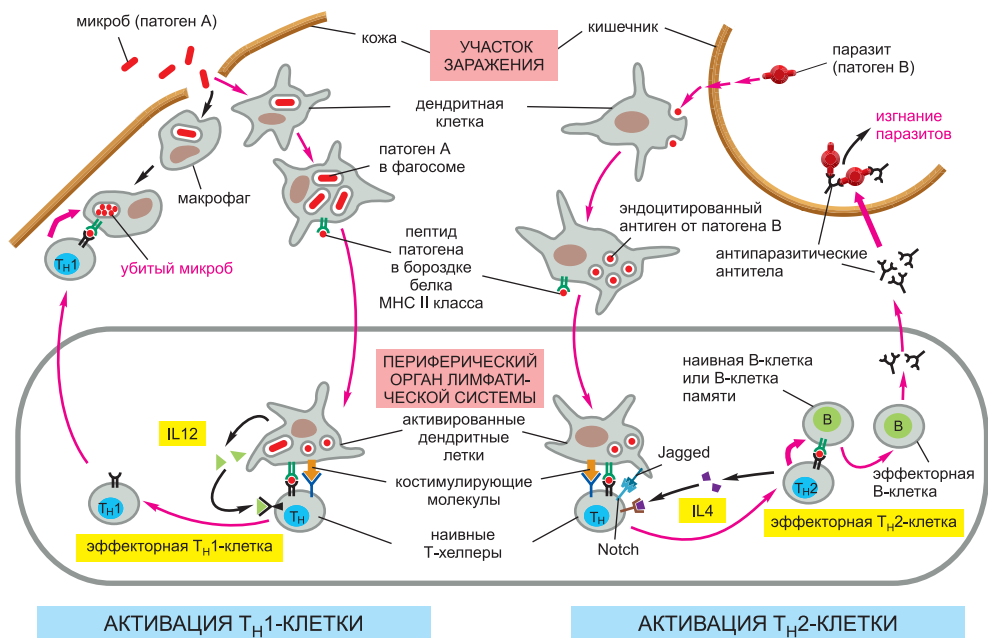


Рис. 25.68. Активация T_H1 - и T_H2 -клеток. Дифференцировка наивных Т-хелперов в эффекторные T_H1 - или T_H2 -клетки определяет характер последующих реакций приобретенного иммунитета. Станет ли наивный Т-хелпер T_H1 - или T_H2 -клеткой, зависит главным образом от сигнальных белков, присутствующих в тот момент, когда активированная дендритная клетка в периферическом лимфоидном органе стимулирует этот Т-хелпер. Тип синтезируемых сигнальных белков зависит от местной окружающей среды и природы патогена, который активировал эту дендритную клетку в очаге заражения. Интерлейкин IL12, выделяемый активированными дендритными клетками, способствует развитию T_H1 -клеток. Развитию же T_H2 -клеток способствуют и трансмембранный белок Jagged — лиганд белка Notch, находящийся на поверхности активированных дендритных клеток, и интерлейкин IL4, вырабатываемый базофилами, тучными клетками и T_H2 -клетками.

На этом рисунке показано, как эффекторная T_H1 -клетка, возникшая в периферическом лимфоидном органе, мигрирует к участку заражения и помогает макрофагу убивать микробов, которых он фагоцитировал. Эффекторная T_H2 -клетка остается в лимфоидном органе и помогает активировать В-клетку на выработку антител к паразиту. Вдобавок к связыванию с паразитами антитела связываются с Fc-рецепторами на поверхности тучных клеток, базофилов и эозинофилов (см. рис. 25.27), которые со своей стороны помогают выдворить паразита из кишечника. Хотя это и не показано, T_H1 -клетки тоже помогают активировать В-клетки на выработку антител.

клеток. Затем T_H1 -клетки мигрируют к участку заражения и помогают активировать зараженные макрофаги (см. рис. 25.68).

Для того чтобы активировать те специфические макрофаги, которые они узнают, эффекторные T_H1 -клетки используют два сигнала. Они выделяют интерферон гамма, который связывается с рецепторами $IFN\gamma$ на поверхности макрофага, и презентируют костимулирующий белок CD40-лиганд, который связывается с белком CD40 на макрофаге (рис. 25.69). (Позже мы увидим, что CD40-лиганд также используется Т-хелперами и для активации В-клеток.) После активации макрофаг может убивать микробов в своих фагосомах: лизосомы получают возможность активнее сливаться с фагосомами и запускать гидролитическую атаку; кроме того, активированный ма-

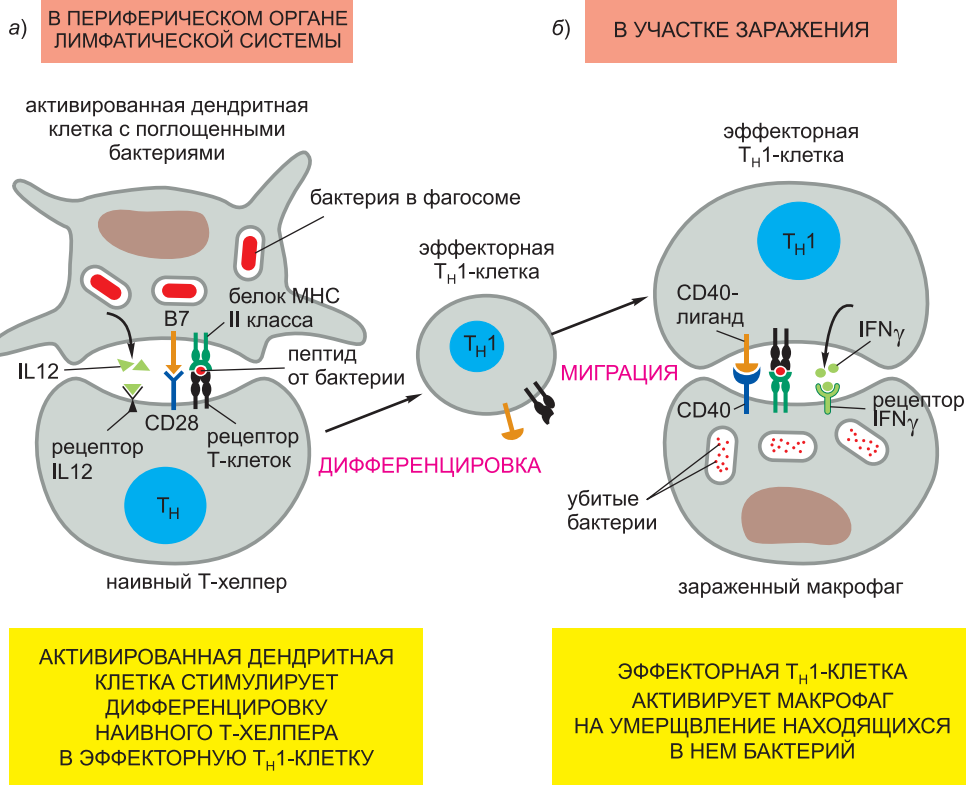


Рис. 25.69. Дифференцировка Т_H1-клеток и активация ими макрофагов. а) Активированная дендритная клетка, которая поглотила бактерии в участке заражения и мигрировала в периферический лимфоидный орган, активирует дифференцировку наивного Т-хелпера в эфektorную Т_H1-клетку. Для того чтобы вызвать дифференцировку в Т_H1-клетки, дендритная клетка использует и костимулирующие белки клеточной поверхности типа белков В7, и секретируемый IL12. б) Затем активированная эфektorная Т_H1-клетка мигрирует из периферического органа лимфатической системы в зараженный участок, где помогает активировать макрофаги, чтобы те убивали бактерии, находящиеся в фагосомах. Как показано на рисунке, Т-клетка делает это посредством выделения интерферона IFN γ и мембраносвязанного CD40-лиганда, который связывается с белком CD40 на поверхности макрофага.

крофаг производит радикалы кислорода и оксид азота, весьма ядовитые для микробов (это обсуждалось в главе 24). Поскольку дендритные клетки тоже экспрессируют белок CD40, Т_H1-клетки в участках заражения могут содействовать и их активации. В результате дендритные клетки увеличивают выработку белков МНС II класса, костимулирующих белков и различных цитокинов, в особенности интерлейкина IL12. Все это дает им возможность более эффективно стимулировать дифференцировку наивных Т-хелперов в эфektorные Т_H1-клетки во вторичных лимфоидных органах, в силу чего образуется положительная обратная связь, которая увеличивает производство Т_H1-клеток и тем самым усиливает активацию макрофагов.

Эфektorные Т_H1-клетки еще и возбуждают *воспалительную реакцию* (обсуждалось в главе 24), привлекая в зараженный участок как можно больше фагоцитирующих клеток. Они делают это тремя способами.

1. Они выделяют цитокины, которые воздействуют на костный мозг таким образом, что тот увеличивает производство моноцитов (предшественников макрофагов, которые циркулируют в крови) и нейтрофилов.
2. Они выделяют другие цитокины, которые активируют эндотелиальные клетки, выстилающие местные кровеносные сосуды, чтобы те экспрессировали молекулы межклеточной адгезии, которые заставляют моноциты и нейтрофилы в крови прилипать к эндотелию.
3. Они выделяют хемокины, которые направляют миграцию осевших на стенках сосудов моноцитов и нейтрофилов из кровотока в участок заражения.

T_H1 -клетка может помочь активировать также и цитотоксическую Т-клетку во вторичном лимфоидном органе, производя хемокины, которые привлекают цитотоксические клетки к участку взаимодействия вида T_H1 -клетка — дендритная клетка, и одновременно стимулируя дендритную клетку к производству большего количества костимулирующих белков. Кроме того, T_H1 -клетки могут помочь эффекторным цитотоксическим Т-клеткам убивать зараженные вирусом клетки-мишени, выделяя интерферон $IFN\gamma$, который увеличивает эффективность, с которой клетки-мишени процессируют вирусные антигены для представления их цитотоксическим Т-клеткам (см. рис. 25.60). Более того, эффекторная T_H1 -клетка способна самостоятельно напрямую убить некоторые клетки, в том числе эффекторные лимфоциты: экспрессируя на своей поверхности *Fas-лиганд*, она может побудить эффекторные Т- или В-клетки, экспрессирующие белок Fas на своей поверхности, подвергнуться апоптозу (см. 25.47, б).

Наконец, и T_H1 -, и T_H2 -клетки могут помочь стимулировать пролиферацию и дифференцировку В-клеток и переключение класса вырабатываемых ими антител с IgM и IgD на один из вторичных классов антител. Прежде чем понять, как Т-хелперу это удастся, нам нужно обсудить роль В-клеточного рецептора антигенов в активации В-клеток.

25.5.5. Связывание антигена с В-клеточными рецепторами (BCR) — только один из этапов пути активации В-клеток

Как и Т-клеткам, большинству В-клеток для активации необходимы многочисленные внеклеточные сигналы. Одним из таких сигналов служит связывание антигена с **В-клеточным рецептором (BCR)**, который, как обсуждалось ранее, представляет собой мембраносвязанную молекулу антитела. Остальные необходимые сигналы обычно обеспечивает Т-хелпер. Если В-клетка получает только первый сигнал, она может быть устранена или функционально инактивирована, что является одним из путей привития В-клеткам толерантности к собственным антигенам.

Сигнальный путь через BCR работает почти так же, как и сигнальный путь через TCR (см. рис. 25.66). Рецептор связан с двумя инвариантными белковыми цепями, $I\alpha$ и $I\beta$, которые помогают преобразовывать связывание антигена с BCR во внутриклеточные сигналы. Когда мультивалентный антиген соединяет («лигирует») молекулы с BCR на поверхности В-клетки, это заставляет В-клеточные рецепторы связанные с ними инвариантные цепи собираться в небольшие комплексы. Такая агрегация ведет к сборке внутриклеточного сигнального комплекса на участке сгруппированных рецепторов и к запуску каскада фосфорилирования тирозинов (рис. 25.70).

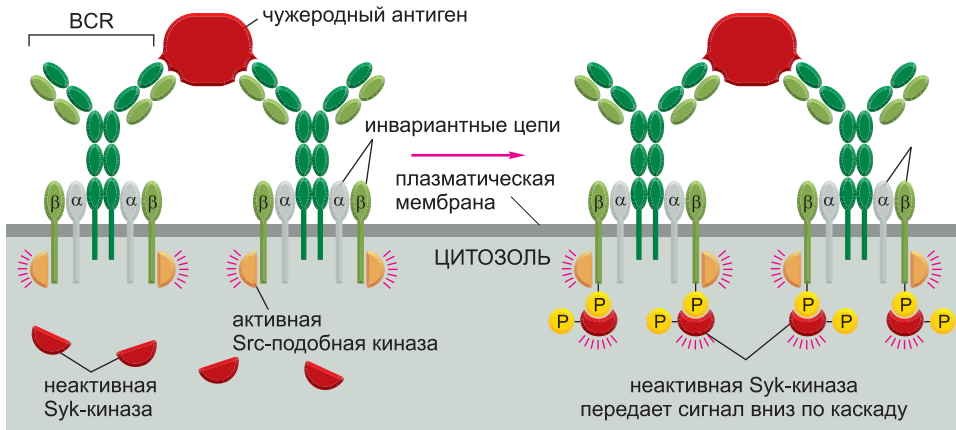


Рис. 25.70. События, происходящие на ранних стадиях передачи сигнала в В-клетках, активированных связыванием антигена с BCR. Антиген соединяет («лигирует») соседние BCR, которые представляют собой трансмембранные молекулы антител. Лигирование становится причиной объединения в группы BCR и связанных с ними инвариантных цепей (гетеродимеров $Ig\alpha$ и $Ig\beta$). С цитозольным хвостом $Ig\beta$ связывается Src-подобная цитоплазматическая тирозинкиназа, которая может быть представлена *Fyn*, *Blk* или *Lyn*. Она входит в состав группы и фосфорилирует гетеродимеры $Ig\alpha$ и $Ig\beta$ (для простоты показано только фосфорилирование гетеродимера $Ig\beta$). Как и в случае активации TCR, для активации этих Src-подобных киназ необходима также тирозинфосфатаза CD45 (не показана). Получившиеся в результате фосфотирозины на гетеродимерах $Ig\alpha$ и $Ig\beta$ становятся участками докинга для другой Src-подобной тирозинкиназы *Syk*, которая является гомологом тирозинкиназы Т-клеток ZAP70 (см. рис. 25.66). Подобно тирозинкиназе ZAP70, тирозинкиназа *Syk* фосфорилируется и тем самым активируется, затем передает сигнал вниз по каскаде.

Корецепторный комплекс, связывающий белки системы комплемента, значительно увеличивает эффективность передачи сигналов через BCR и связанные с ним инвариантные цепи. Если какой-нибудь микроб непосредственно активирует систему комплемента (обсуждалось в главе 24), то белки системы комплемента часто откладываются на поверхности микроба, во много раз усиливая реакцию В-клетки на этого микроба. После того как микроб сгруппирует BCR на В-клетке, в эту группу привнесутся *комплемента связывающие корецепторные комплексы*, увеличивающие силу сигналов за счет активации PI3-киназы (о чем говорилось в главе 15) (рис. 25.71, а). Как и предполагалось, у мышей с отсутствием одного из необходимых компонентов системы комплемента или одной из субъединиц комплемента связывающего корецептора на поверхности В-клеток гуморальный ответ очень ослаблен.

На поздних стадиях иммунной реакции, когда на поверхности микроба присутствуют антитела IgG, другой тип корецепторов ослабляет реакцию В-клетки. Это *Fc-рецепторы*, которые связывают хвосты антител IgG. Они привлекают в сигнальный комплекс ферменты (липидные и белковые фосфатазы), которые уменьшают силу передаваемых сигналов (рис. 25.71, б). Таким образом, Fc-рецепторы на В-клетках действуют в качестве ингибирующих корецепторов, так же как это делают белки CTLA4 на Т-клетках. Таким образом, корецепторы на Т-клетке или на В-клетке позволяют этой клетке получать дополнительную информацию об антигене, связанном с ее рецепторами, и с ее учетом принимать более обоснованное решение относительно того, как на него реагировать.

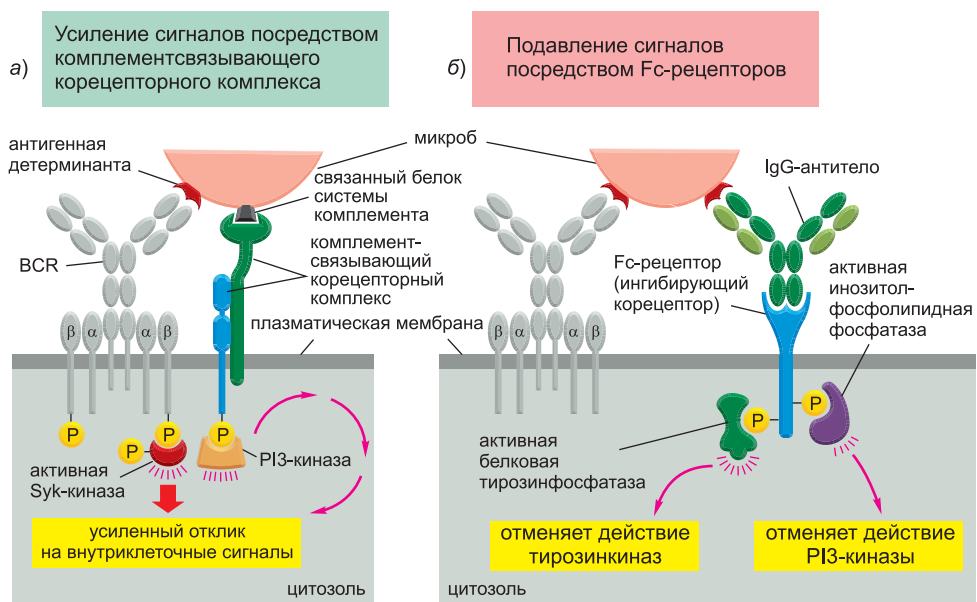


Рис. 25.71. Влияние В-клеточных корецепторов на эффективность передачи сигналов через BCR.

а) Связывание комплексов микроб–комплемент с BCR приводит к перекрестному связыванию этих BCR с комплементсвязывающими корецепторными комплексами. Цитозольный хвост одного из компонентов корецепторного комплекса фосфорилируется по остаткам тирозина, которые после этого служат «посадочным местом» для PI3-киназы. Как было сказано в главе 15, PI3-киназа активируется и фосфорилирует определенные инозитол-содержащие фосфолипиды в плазматической мембране, которые после этого служат «посадочными местами» для привлечения внутриклеточных сигнальных белков (не показано). Эти сигнальные белки действуют совместно с сигналами, вырабатываемыми Сук-киназой, усиливая реакцию. б) Когда антитела IgG связываются с чужеродным антигеном (обычно это происходит на поздней стадии реакции), Fc-области антител связываются с Fc-рецепторами на поверхности В-клетки, которые таким образом привлекаются к сигнальному комплексу. Fc-рецепторы становятся фосфорилированными по остаткам тирозина, которые после этого служат «посадочными местами» для ферментов фосфатаз двух типов: 1) фосфатазы инозитол-содержащих фосфолипидов, которая дефосфорилирует «посадочные места» на плазматической мембране, представляющие собой инозитол-содержащие фосфолипиды, образованные PI3-киназой, и тем самым отменяет активационные действия PI 3-киназы; 2) белковых тирозинфосфатаз, которые ингибируют передачу сигналов активированными тирозинкиназами.

25.5.6. Антигенспецифичные Т-хелперы необходимы для активации большинства В-клеток

Если антигенпрезентирующие клетки, такие как дендритные клетки и макрофаги, всеядны и заглатывают и представляют антигены на своих белках МНС неспецифически, то В-клетки крайне разборчивы и, как правило, презентируют только пептиды, полученные из антигенов, которые они специфически опознают при помощи своих BCR. Таким образом, BCR нужны не только для того, чтобы связывать антиген с целью запуска процесса активации В-клетки; они играют ключевую роль также и в привлечении помощи со стороны Т-клеток. Посредством эндоцитоза они доставляют свой связанный белковый антиген в эндосомальный компартмент,

где этот антиген разлагается на пептиды; многие из этих пептидов возвращаются к поверхности В-клетки в связке с белками МНС II класса (см. рис. 25.61). Такие комплексы пептид–белок МНС II класса опознаются антигенспецифичными Т-хелперами, которые затем посылают В-клетке дальнейшие сигналы, которые нужны ей для пролиферации и секреции антител (рис. 25.72).

Как же образуются антигенспецифичные Т-клетки, необходимые для активации В-клеток? Как обсуждалось ранее, в ходе первичных реакций антителигенеза (первичного гуморального ответа) наивные Т-хелперы активируются в периферическом органе лимфатической системы за счет связывания с чужеродным пептидом, связанным с белком МНС II класса на поверхности активированной дендритной клетки. Эффекторные Т-хелперы, которые образуются в результате этой активации, могут активировать В-клетку, которая презентует на своей поверхности такой же комплекс из чужеродного пептида и белка МНС II класса. Таким образом, Т-хелпер активирует только те В-клетки, BCR которых специфично опознают антиген, первоначально активировавший эту Т-клетку, несмотря на то что TCR и BCR обычно опознают разные антигенные детерминанты на одном и том же антигене (см. рис. 25.72). Данное требование *сцепленного распознавания* антигена Т-клеткой

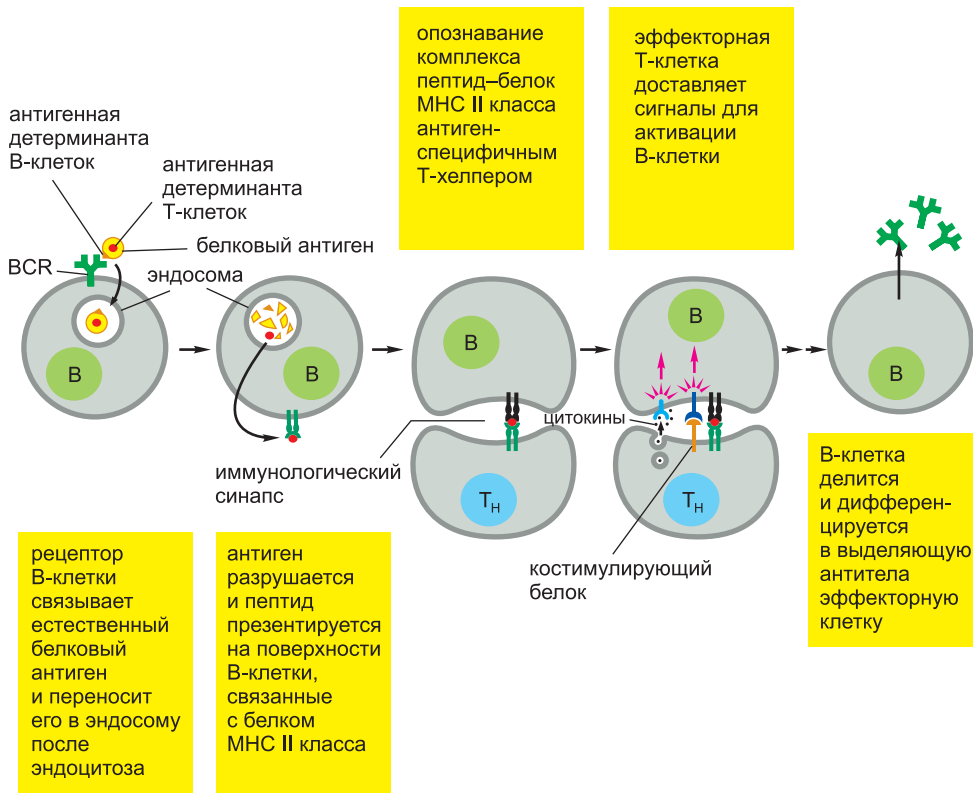


Рис. 25.72. Активация В-клетки белковым антигеном и эффекторным Т-хелпером. Обратите внимание, что В-клетки и Т-клетки опознают разные антигенные детерминанты на антигене и что эффекторный Т-хелпер использует и секретируемые, и мембраносвязанные костимулирующие молекулы с целью помочь активировать В-клетку.

и В-клеткой помогает избегать аутоиммунных В-клеточных реакций, для которых потребовалось бы одновременное присутствие и Т-хелперов, и В-клеток, которые опознавали бы один и тот же собственный антиген.

При вторичном гуморальном ответе В-клетки памяти сами могут выступать в роли антигенпрезентирующих клеток и активировать Т-хелперы, равно как и служить последующими мишенями эффекторных Т-хелперов. Взаимно усиливающие действия Т-хелперов и В-клеток ведут к развитию такой реакции образования антител (гуморального ответа), которая одновременно является и интенсивной, и очень специфичной.

Как только Т-хелпер активируется, превращаясь в эффекторную Т-клетку, и входит в контакт с В-клеткой, происходит внутренняя перестройка цитоплазмы Т-хелпера. Т-клетка ориентирует свою centrosому и аппарат Гольджи в направлении В-клетки, как было описано ранее на примере эффекторной цитотоксической Т-клетки, контактирующей со своей клеткой-мишенью (см. рис. 25.46). Однако в данном случае такая ориентация, как полагают, позволяет эффекторному Т-хелперу направлять и мембраносвязанные, и секретируемые цитокины на поверхность В-клетки (см. рис. 25.72). Одна из ключевых мембраносвязанных сигнальных молекул — CD40-лиганд, с которым мы уже познакомились ранее. Он экспрессируется на поверхности эффекторных Т-хелперов (но не на поверхности неактивированных наивных Т-хелперов или Т-хелперов памяти) и опознается белком CD40, находящимся на поверхности В-клетки. Такое взаимодействие между CD40-лигандом и белком CD40 необходимо Т-хелперам для активации пролиферации В-клеток и их дифференцировки в клетки памяти или в выделяющие антитела эффекторные клетки. Те индивидуумы, у которых отсутствует CD40-лиганд, страдают тяжелой иммунной недостаточностью. Они восприимчивы к тем же инфекциям, что и больные СПИДом, у которых разрушены Т-хелперы.

Т-хелперы выделяют также цитокины, призванные помочь пролиферации и дифференцировке В-клеток, а в некоторых случаях и переключению класса вырабатываемых ими антител. В число таких цитокинов входят IL2 и IL4. Например, IL4 вырабатывается T_H2-клетками и совместно с CD40-лигандом стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-клеток; он также способствует переключению на выработку антител IgE. Мыши с пороком в выработке IL4 страдают серьезным нарушением способности вырабатывать антитела IgE.

На рис. 25.73 сравниваются сигналы, необходимые для активации Т- и В-клеток; в таблице 25.4 перечислены некоторые цитокины, рассмотренные в этой главе.

25.5.7. Особый класс В-клеток опознает Т-независимые антигены

Некоторые антигены могут стимулировать пролиферацию В-клеток и их дифференцировку в вырабатывающие антитела эффекторные клетки без помощи со стороны Т-клеток. Большинство таких *Т-независимых антигенов* представлено микробными полисахаридами, которые не активируют Т-хелперы. Одни непосредственно активируют В-клетки, выступая в роли и антигенного сигнала, и дополнительных сигналов, обычно посылаемых Т-хелперами. Другие представляют собой крупные полимеры с повторяющимися идентичными антигенными детерминантами (см. рис. 25.29, б); их множественное связывание с BCR уже само по себе может служить достаточно сильным сигналом, чтобы активировать В-клетку напрямую, без участия каких-либо дополнительных сигналов.

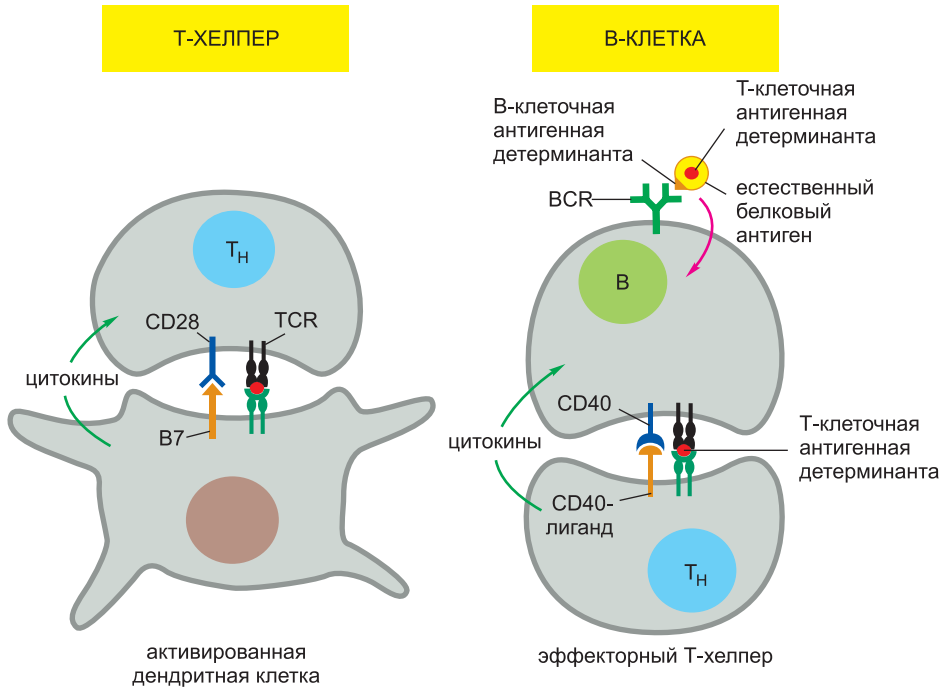


Рис. 25.73. Сравнение сигналов, необходимых для активации Т-хелпера и В-клетки одним и тем же белковым антигеном. Обратите внимание, что в обоих случаях секретируемые и мембраносвязанные молекулы действуют совместно в процессах активации. Красная стрелка обозначает эндоцитоз белкового антигена. Хотя это и не показано на рисунке, CD40-лиганд также используется эффекторными Т-хелперами для увеличения и поддержания активации дендритных клеток, которые экспрессируют белок CD40 (образуется положительная обратная связь).

Антигенная детерминанта, опознаваемая Т-хелпером, представляется на поверхности и дендритной клетке, и В-клетки в виде отщепленного от белкового антигена пептидного фрагмента, связанного с белком МНС II класса. В-клетка, напротив, распознает другую антигенную детерминанту на поверхности свернутого (нативного) белка.

Поскольку Т-независимые антигены не активируют Т-хелперы, они не в состоянии индуцировать процессы В-клеточной памяти, «созревания аффинности» или переключения класса, ибо для протекания всех этих процессов необходима помощь Т-клеток. Поэтому такие антигены главным образом стимулируют производство антител IgM низкого сродства (но высокой avidности). Большинство В-клеток, вырабатывающих антитела без помощи Т-клеток, принадлежат к особой линии В-клеток. Их называют *В1-клетками*, чтобы отличать их от *В2-клеток*, которым необходима помощь Т-клеток. В1-клетки, по-видимому, особенно важны в защите организма от кишечных патогенов⁷.

⁷ Следует иметь в виду, что так же, как и в случае Т-хелперов, разнообразие популяций В-лимфоцитов не изучено до конца. Помимо В-1 и В-2 клеток, а также эффекторных клеток и клеток памяти, в настоящее время на основании данных анатомической локализации, биологических свойств и поверхностных маркеров выделяют также В-клетки маргинальной зоны и фолликулярные В-клетки. — *Прим. ред.*

Таблица 25.4. Свойства некоторых цитокинов

| ЦИТОКИН | НЕКОТОРЫЕ ИСТОЧНИКИ | НЕКОТОРЫЕ ДЕЙСТВИЯ |
|--------------|--|--|
| IL2 | все Т-хелперы; некоторые цитотоксические Т-клетки | стимулирует пролиферацию и дифференцировку активированных Т-клеток; необходим для развития регуляторных Т-клеток в тимусе |
| IL4 | T _H 2-клетки, базофилы и тучные клетки | стимулирует пролиферацию В-клеток, их дифференциацию и переключение класса на IgE и IgG1; запускает развитие T _H 2-клеток и ингибирует развитие T _H 1-клеток |
| IL7 | многие не-Т-клетки | способствует выживанию Т-клеток памяти |
| IL10 | T _H 2-клетки, макрофаги и дендритные клетки | ингибирует макрофаги и развитие T _H 1-клеток |
| IL12 | В-клетки, макрофаги, дендритные клетки и гранулоциты | индуцирует развитие T _H 2-клеток и тормозит развитие T _H 1-клеток |
| IL15 | многие не-Т-клетки | способствует выживанию Т-клеток памяти |
| IL17 | некоторые эффекторные Т-хелперы | стимулирует воспалительные реакции |
| IFN γ | T _H 1-клетки и цитотоксические Т-клетки | активирует макрофаги; повышает уровень экспрессии МНС в клетках многих типов |
| TGF β | регуляторные Т-клетки | подавляет активность эффекторных Т-клеток, дендритных клеток и макрофагов |
| TNF α | T _H 1-клетки и макрофаги | активирует эндотелиальные клетки и макрофаги |

25.5.8. Молекулы, участвующие в иммунном узнавании, принадлежат к древнему суперсемейству Ig

Большинство белков, опосредующих межклеточное узнавание или распознавание антигена в иммунной системе, содержат иммуноглобулиновые или Ig-подобные домены, а это позволяет предположить, что они имеют общую историю эволюции. Входят же в это **иммуноглобулиновое суперсемейство** антитела, TCR, белки МНС, корцепторы CD4, CD8 и CD28, костимулирующие белки B7 и большинство инвариантных полипептидных цепей, связанных с TCR и BCR, а также различные Fc-рецепторы на лимфоцитах и других лейкоцитах. Все эти белки содержат один или несколько иммуноглобулиновых или Ig-подобных доменов. Фактически к этому суперсемейству принадлежит около 15% из примерно 250 белков, которые были охарактеризованы на поверхности лейкоцитов. Многие из этих молекул представляют собой димеры или олигомеры большей величины, в которых домены Ig или Ig-подобные домены одной цепи взаимодействуют с такими же доменами другой цепи (рис. 25.74).

Аминокислоты каждого Ig-подобного домена обычно закодированы в отдельном экзоне. Кажется весьма вероятным, что все суперсемейство генов эволюционировало из некоего гена, кодирующего один-единственный Ig-подобный домен, — подобного генам, кодирующим β_2 -микроглобулин (см. рис. 25.50, а и 25.52) или белок Thy1 (см. рис. 25.74), — который, возможно, опосредовал межклеточные взаимодействия. Есть данные, что такой первичный ген возник еще до того, как позвоночные отделились от своих предков-беспозвоночных около 400 миллионов лет назад. Новые члены семейства, предположительно, возникали за счет дупликаций экзонов и генов.

Множественные генные сегменты, кодирующие антитела и TCR, могли возникнуть, когда произошла вставка транспозона (обсуждали в главе 5), вставлялся

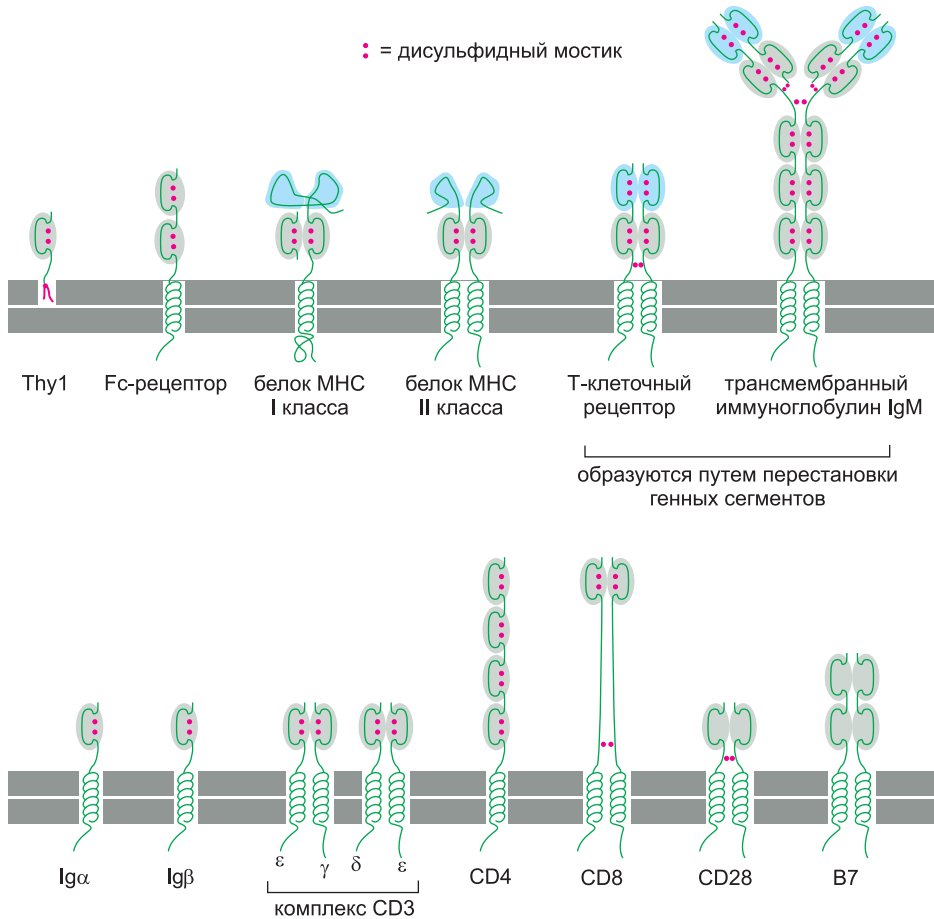


Рис. 25.74. Некоторые из рассматриваемых в этой главе белков клеточной поверхности, принадлежащие к суперсемейству Ig. Домен Ig и Ig-подобные домены затенены *серым*, за исключением антигенсвязывающих доменов (не все из которых являются Ig-доменами), которые оттенены *синим*. Функция белка Thy1 доподлинно неизвестна, но он удерживается в плазматической мембране гликозилфосфатидилинозитольным (ГФИ) (glycosylphosphatidylinositol, GPI) якорем и широко используется для идентификации Т-клеток у мышей. Суперсемейство Ig включает также множество белков клеточной поверхности, участвующих в межклеточных взаимодействиях вне иммунной системы, таких как молекула адгезии нервных клеток (NCAM), рассмотренная нами в главе 19, и рецепторы различных белковых факторов роста, рассмотренные нами в главе 15 (не показаны). В целом у человека известно более 750 членов суперсемейства Ig.

в экзон гена, кодирующего представителя семейства Ig в предковой лимфоцитоподобной клетке. Такой транспозон мог содержать предков генов *Rag*, которые, как обсуждалось ранее, кодируют белки, запускающие V(D)J-рекомбинацию; открытие того факта, что в опытах *in vitro* белки RAG могут катализировать транспозицию (*в оригинале — oneprintка: «RAG proteins can act as transposons» — это бессмыслица, правильно «... as transposases»*), служит веским доводом в пользу этой гипотезы. Как только такой транспозон встраивался в экзон, содержащий его ген уже мог экспрессироваться только в том случае, если этот транспозон вырезался

белками RAG и оба конца экзона воссоединялись, — во многом так, как это происходит при сборке V- и J-генных сегментов гена легкой цепи Ig (см. рис. 25.38). Вполне возможно, что впоследствии вторая вставка этого транспозона в тот же экзон привела к разделению гена на три сегмента, аналогичных современным генным сегментам V, D и J. Опять же, вполне возможно, что впоследствии очередная дупликация — или отдельных генных сегментов, или всего расщепленного гена — привела к организации генных сегментов, характерной для систем приобретенного иммунитета современных позвоночных.

Заключение

Для образования эффекторного T-хелпера из наивного T-хелпера необходимы множественные сигналы от активированной дендритной клетки. Одним из таких сигналов служит связывание комплексов МНС—пептид на поверхности дендритной клетки с TCR и корецептором CD4 на T-клетке. Другие сигналы представлены костимулирующими белками на поверхности дендритной клетки, включая CD28, и выделяемыми из клетки цитокинами. Когда наивные T-хелперы первоначально активируются на дендритной клетке, большинство дифференцируется в эффекторные T_H1- или T_H2-клетки в зависимости главным образом от сигнальных белков в окружающей их среде. T_H1-клетки активируют макрофаги, цитотоксические T-клетки и В-клетки, тогда как T_H2-клетки активируют главным образом В-клетки. В обоих случаях эффекторные T-хелперы распознают тот же комплекс из чужеродного пептида и белка МНС II класса на поверхности клетки-мишени, что и первоначально узнавший ими на дендритной клетке, которая их активировала. Они активируют свои клетки-мишени сочетанием мембраносвязанных и секретируемых костимулирующих белков. Одним из мембраносвязанных сигнальных белков, используемых и T_H1-, и T_H2-клетками, служит CD40-лиганд.

Как и в случае T-клеток, для активации В-клеток нужны множественные сигналы. Одним из таких сигналов служит связывание антигена с В-клеточными рецепторами антигенов (BCR), а остальные обеспечиваются антигенспецифичными эффекторными T-хелперами. Требование множественности сигналов для активации T-клетки или В-клетки помогает предотвратить ненадлежащую и опасную для организма активацию лимфоцитов, в том числе и аутореактивных лимфоцитов.

Большая часть белков иммунной системы, участвующих в межклеточном опознавании и в узнавании антигена, включая антитела, TCR и белки МНС, а также различные корецепторы, рассматриваемые в этой главе, принадлежит к древнему суперсемейству Ig. Полагают, что это суперсемейство эволюционировало из некоего первичного гена, кодировавшего один-единственный Ig-подобный домен. Механизмы увеличения разнообразия антител и T-клеточных рецепторов за счет рекомбинации генных сегментов, вполне возможно, появились тогда, когда какой-то транспозон встроился в один из экзонов гена, кодирующего одного из членов суперсемейства Ig.

Литература

Общая

Abbas A.K., Lichtman A.H. & Pober J.S. (2005) Cellular and Molecular Immunology 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders.

Janeway C. A. Jr., Travers P., Walport M. & Shlomchik M. (2005) *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* 6th ed. London: Garland Science.

Лимфоциты и клеточные основы приобретенного иммунитета

Ahmed R. & Rouse B. T. (eds) (2006) Immunological memory. *Immunol. Rev.* 211: 5–337.

Ebert L. M., Schaerli P. & Moser B. (2005) Chemokine-mediated control of Tcell traffic in lymphoid and peripheral tissues. *Mol. Immunol.* 42: 799–809.

Goodnow C. C., Sprent J., Fazekas de St. Groth B. & Vinuesa C. G. (2005) Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature* 435: 590–597.

Gourley T. S., Wherry E. J., Masopust D. & Ahmed R. (2004) Generation and maintenance of immunological memory. *Semin. Immunol.* 16: 323–333.

Janeway C. A. Jr. & Medzhitov R. (2002) Innate immune recognition. *Annu. Rev. Immunol.* 20: 197–216.

Kyewski B. & Klein L. (2006) A central role for central tolerance. *Annu. Rev. Immunol.* 24: 571–606.

Singh N. J. & Schwartz R. H. (2006) Primer: mechanisms of immunologic tolerance. *Nature Clin. Pract. Rheumatol.* J2: 44–52.

Steinman R. M. & Hemmi H. (2006) Dendritic cells: translating innate to adaptive immunity. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 311: 17–58.

Wiedle G., Dunon D. & Imhof B. A. (2001) Current concepts in lymphocyte homing and recirculation. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 38: 1–31.

B-клетки и антитела

Burton D. R. & Woof J. M. (1992) Human antibody effector function. *Adv. Immunol.* 51: 1–84.

Davies D. R. & Cohen G. H. (1996) Interactions of protein antigens with antibodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93: 7–12.

Davies D. R., Padlan E. A. & Sheriff S. (1990) Antibody-antigen complexes. *Annu. Rev. Biochem.* 59: 439–473.

Jimenez R., Salazar G., Baldrige K. K. & Romesberg F. E. (2003) Flexibility and molecular recognition in the immune system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 92–97.

Padlan E. A. (1994) Anatomy of the antibody molecule. *Mol. Immunol.* 31: 169–217.

Zhang M., Srivastava G. & Lu L. (2004) The pre-B cell receptor and its function during B cell development. *Cell Mol. Immunol.* 1: 89–94.

Происхождение разнообразия антител

Besmer E., Gourzi P. & Papavasiliou F. N. (2004) The regulation of somatic hypermutation. *Curr. Opin. Immunol.* 16: 241–245.

Corcoran A. E. (2005) Immunoglobulin locus silencing and allelic exclusion. *Semin. Immunol.* 17: 141–154.

Dudley D. D., Chaudhuri J., Bassing C. H. & Alt F. W. (2005) Mechanism and control of V(D)J recombination versus class switch recombination: similarities and differences. *Adv. Immunol.* 86: 43–112.

Honjo T., Nagaoka H., Shinkura R. & Muramatsu M. (2005) AID to overcome the limitations of genomic information. *Nature Immunol.* 6: 655–61.

Jung D. & Alt F. W. (2004) Unraveling V(D)J recombination; insights into gene regulation. *Cell* 116: 299–311.

Jung D., Giallourakis C., Mostoslavsky R. & Alt F. W. (2006) Mechanism and control of V(D)J recombination at the immunoglobulin heavy chain locus. *Annu. Rev. Immunol.* 24: 541–570.

Longerich S., Basu U., Alt F. & Storb U. (2006) AID in somatic hypermutation and class switch recombination. *Curr. Opin. Immunol.* 18: 164–174.

Maizels N. (2005) Immunoglobulin gene diversification. *Annu. Rev. Genet.* 39: 23–46.

Neuberger M. & Di Noia J. M. (2007) Molecular mechanisms of antibody somatic hypermutation. *Annu. Rev. Biochem.* 76: in press.

Neuberger M. S., Harris R. S., Di Noia J. M. & Petersen-Mahrt S. K. (2003) Immunity through DNAdamination. *Trends Biochem. Sci.* 28: 305–312.

Seising E. (2006) Ig class switching: targeting the recombinational mechanism. *Curr. Opin. Immunol.* 18: 249–254.

T-клетки и белки МНС

Coutinho A., Caramalho I., Seixas E. & Demengeot J. (2005) Thymic commitment of regulatory T cells is a pathway of TCR-dependent selection that isolates repertoires undergoing positive or negative selection. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 293: 43–71.

Krogsgaard M. & Davis M. M. (2005) How T cells 'see' antigen. *Nature Immunol.* 6: 239–245.

Loureiro J. & Ploegh H. L. (2006) Antigen presentation and the ubiquitin-proteasome system in host-pathogen interactions. *Adv. Immunol.* 92: 225–305.

McDevitt H. O. (2000) Discovering the role of the major histocompatibility complex in the immune response. *Annu. Rev. Immunol.* 18: 1–17.

Mellman I. & Steinman R. M. (2001) Dendritic cells: specialized and regulated antigen processing machines. *Cell* 106: 255–258.

Pulendran B (2004) Immune activation: death, danger and dendritic cells. *Cell Biol.* 14: R30–32.

Reis e Sousa C. (2006) Dendritic cells in a mature age. *Nature Rev. Immunol.* 6: 476–483.

Rudolph M. G., Stanfield R. L. & Wilson I. A. (2006) How TCRs bind MHCs, peptides, and coreceptors. *Annu. Rev. Immunol.* 24: 419–466.

Russell J. H. & Ley T. J. (2002) Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annu. Rev. Immunol.* 20: 323–370.

Sallusto F., Geginat J. & Lanzavecchia A. (2004) Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance. *Annu. Rev. Immunol.* 22: 745–763.

Sakaguchi S., Ono M., Setoguchi R. et al. (2006) Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. *Immunol. Rev.* 212: 8–27.

Starr T. K., Jameson S. C. & Hogquist K. A. (2003) Positive and negative selection of T cells. *Annu. Rev. Immunol.* 21: 139–176.

Steinman R. M., Bonifaz L., Fujii S. et al. (2005) The innate functions of dendritic cells in peripheral lymphoid tissues. *Adv. Exp. Med. Biol.* 560: 83–97.

Trombetta E. S. & Mellman I. (2005) Cell biology of antigen processing in vitro and in vivo. *Annu. Rev. Immunol.* 23: 975–1028.

Villasenor J., Benoist C. & Mathis D. (2005) AIRE and APECED: molecular insights into an autoimmune disease. *Immunol. Rev.* 204: 156–164.

von Boehmer H. (2004) Selection of the T-cell repertoire: receptor-controlled checkpoints in T-cell development. *Adv. Immunol.* 84: 201–238.

Watanabe N., Wang Y.H., Lee H.K. et al. (2005) Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in human thymus. *Nature* 436: 1181–1185.

T-хелперы и активация лимфоцитов

Abbas A.K. (2003) The control of T cell activation vs. tolerance. *Autoimmun. Rev.* 2: 115–118.

Alegre M.L., Frauwirth K.A. & Thompson C.B. (2001) T-cell regulation by CD28 and CTLA-4. *Nature Rev. Immunol.* 1: 220–228.

Barclay A.N. (2003) Membrane proteins with immunoglobulin-like domains — a superfamily of interaction molecules. *Semin. Immunol.* 15: 215–223.

Castellino F. & Germain R.N. (2006) Cooperation between CD4⁺ and CD8⁺ T cells: when, where, and how. *Annu. Rev. Immunol.* 24: 519–540.

Deane J.A. & Fruman D.A. (2004) Phosphoinositide 3-kinase: diverse roles in immune cell activation. *Annu. Rev. Immunol.* 22: 563–598.

Dustin M.L., Tseng S.Y., Varma R. & Campi G. (2006) T cell-dendritic cell immunological synapses. *Curr. Opin. Immunol.* 18: 512–516.

Eason D.D., Cannon J.P., Haire R.N. et al. (2004) Mechanisms of antigen receptor evolution. *Semin. Immunol.* 16: 215–226.

Matthews S.A. & Cantrell D.A. (2006) The role of serine/threonine kinases in T-cell activation. *Curr. Opin. Immunol.* 18: 314–320.

McHeyzer-Williams U., Malherbe L.P. & McHeyzer-Williams M.G. (2006) Helper T cell-regulated B cell immunity. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 311: 59–83.

Mills D.M. & Cambier J.C. (2003) B lymphocyte activation during cognate interactions with CD4⁺ T lymphocytes: molecular dynamics and immunologic consequences. *Semin. Immunol.* 15: 325–329.

Murphy K.M. & Reiner S.L. (2002) The lineage decisions of helper T cells. *Nature Rev. Immunol.* 2: 933–944.

Peggs K.S. & Allison J.P. (2005) Co-stimulatory pathways in lymphocyte regulation: the immunoglobulin superfamily. *B.J. Haematol.* 130: 809–824.

Reinhardt R.L., Kang S.J., Liang H.E. & Locksley R.M. (2006) T helper cell effector fates— who, how and where? *Curr. Opin. Immunol.* 18: 271–277.

Reth M. & Brummer T. (2004) Feedback regulation of lymphocyte signalling. *Nature Rev. Immunol.* 4: 269–277.

Samelson L.E. (2002) Signal transduction mediated by the T cell antigen receptor: the role of adapter proteins. *Annu. Rev. Immunol.* 20: 371–394.

Steinman R.M., Hawiger D. & Nussenzweig M.C. (2003) Tolerogenic dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 21: 685–711.

Villiers M.B., Perrin-Cocon L., Marche P.N. & Villiers C. (2004) Complement receptors and B lymphocytes. *Crit. Rev. Immunol.* 24: 465–478.

Словарь терминов

ABC-переносчики

Большое семейство мембранных транспортных белков, использующих энергию гидролиза АТФ для переноса через мембрану пептидов или небольших молекул (рис. 11.7).

acetylCoA (ацетил-КоА)

Небольшая водорастворимая активированная молекула-переносчик. Состоит из ацетильной группы и кофермента А (CoA), соединенных легко гидролизуемой тиоэфирной связью.

ACh — *смотри* ацетилхолин

AChR — *смотри* ацетилхолиновый рецептор

ADP (аденозин-5'-дифосфат; АДФ)

Нуклеотид, образующийся в результате гидролиза терминального фосфата АТФ. Регенирует в АТФ при фосфорилировании в энергогенерирующем процессе, например, при окислительном фосфорилировании (рис. 2.57).

Akt (протеинкиназа В, РКВ)

Серин-треониновая протеинкиназа, функционирующая во внутриклеточном сигнальном пути PI3-киназа/Akt, особенно важном для роста и выживания сигнальных клеток. Akt также называют протеинкиназой В (РКВ) (рис. 15.64).

AMP (аденозин-5'-фосфат; АМФ)

Один из четырех нуклеотидов молекулы РНК. Для образования АТФ к АМФ присоединяются два фосфата. (приложение 2.6, стр. 182-183)

APC — *смотри* белок аденоматозного полипоза толстой кишки

APC/C — *смотри* стимулирующий анафазу комплекс

***Arabidopsis thaliana* (резуховидка Таля), или арабидопсис**

Небольшой цветковый сорняк, родственник горчице. Модельный организм цветковых растений и основной объект исследований в молекулярной генетике растений.

ARF (фактор рибозилирования ADP, белок ARF)

Мономерная GTPаза суперсемейства Ras, отвечающая за регуляцию сборки COP1-оболочки и клатриновой оболочки в мембранах аппарата Гольджи (табл. 15.5, стр. 1423).

ARP — *смотри* комплекс ARP

ARS — *смотри* автономно реплицирующуюся последовательность

ATM (мутантный белок при атаксии-телеангиэктазии)

Родственная АTR протеинкиназа, активирующаяся двойными разрывами ДНК. Если разрывы не репарируются, ATM инициирует сигнальный каскад, приводящий к остановке клеточного цикла.

АТР (аденозин-5'-трифосфат; АТФ)

Нуклеозидтрифосфат, состоящий из аденина, рибозы и трех фосфатных групп. Основной переносчик химической энергии в клетках. Терминальные фосфатные группы очень реакционноспособны в том смысле, что их гидролиз или перенос на другую молекулу происходит с высвобождением большого количества свободной энергии (рис. 2.26).

АТР-синтаза (F_0F_1 -АТРаза)

Трансмембранный ферментативный комплекс во внутренней мембране митохондрий и тилакоидной мембране хлоропластов. Катализирует образование АТР из АДФ и неорганического фосфата в процессе окислительного фосфорилирования и фотосинтеза, соответственно. Также присутствует в плазматической мембране бактерий.

АТРаза (АТФаза)

Фермент, катализирующий гидролиз АТР. Многие белки обладают АТРазной активностью.

АТР (белок, родственный белкам атаксии-телеангиэктазии и Rad3)

Родственная АТМ протеинкиназа, активируемая повреждением ДНК. Если повреждение не репарируется, АТР способствует инициации сигнального каскада, приводящего к остановке клеточного цикла.

ВАС — *смотри* бактериальная искусственная хромосома

Bcl2 — *смотри* семейство Bcl2

В-клетка (В-лимфоцит)

Тип лимфоцитов, синтезирующих антитела.

В-лимфоцит — *смотри* В-клетка

Ca²⁺/кальмодулин-зависимая протеинкиназа — *смотри* CaM-киназа

Ca²⁺-насос (кальциевый насос, Ca²⁺-АТРаза)

Транспортный белок мембраны саркоплазматического ретикулума мышечных клеток (и других типов клеток). Накачивает Ca²⁺ из цитоплазмы в саркоплазматический ретикулум за счет энергии гидролиза АТР.

Caenorhabditis elegans

Небольшой (~1 мм) круглый червь (нематода), широко используемый в качестве модельного организма в молекулярной биологии и биологии развития.

САК — *смотри* Cdk-активирующая киназа

САМ (молекула клеточной адгезии)

Белок на поверхности животных клеток, опосредующий межклеточную адгезию и прикрепление клеток к матриксу.

сАМР — *смотри* циклический АМР

сАМР-зависимая протеинкиназа — *смотри* циклоАМР-зависимая киназа

CaM-киназа

Серин-треониновая протеинкиназа, активирующаяся Ca²⁺/кальмодулином. За счет фосфорилирования определенных белков-мишеней косвенно опосреду-

ет явления, вызванные повышением концентрации цитоплазматического Ca^{2+} (рис. 15.43).

CaM-киназа II

Многофункциональная Ca^{2+} /кальмодулин-зависимая протеинкиназа, при активации фосфорилирующая саму себя и многочисленные белки-мишени. Встречается в большинстве животных клеток, но особенно ее много в синапсах головного мозга. Связана с некоторыми видами синаптической пластичности позвоночных (рис. 15.44).

CD4

Корцепторный белок, встречающийся в хелперных Т-клетках, регуляторных Т-клетках и макрофагах. Связывает белки МНС класса II (на антиген-презентирующих клетках) вне пептид-связывающей бороздки.

CD8

Корцепторный белок цитотоксических Т-клеток. Связывает белки МНС класса I (на антиген-презентирующих клетках) вне пептид-связывающей бороздки.

CD28

Корцепторный белок Т-клеток, связывающий костимуляторный белок В7 дендритных клеток и создающий дополнительный сигнал, необходимый для активации антигеном наивных Т-клеток.

Cdc6

Белок, необходимый для подготовки ДНК к репликации. Совместно с Cdt1 связывается с комплексом узнавания точки начала репликации на хромосомной ДНК и помогает загрузить на комплекс белки Msm для образования пререпликативного комплекса.

Cdc20

Активаторная субъединица стимулирующего анафазу комплекса (APC/C).

Cdc25

Протеинфосфатаза, дефосфорилирующая Cdk и увеличивающая их активность.

Cdk — *смотри* циклин-зависимая киназа

Cdk M-фазы — *смотри* M-Cdk

Cdk-активирующая киназа (CAK)

Протеинкиназа, фосфорилирующая Cdk в комплексах циклин-Cdk, что приводит к активации Cdk.

Cdt1

Белок, необходимый для подготовки ДНК к репликации. Вместе с Cdc6 связывается с комплексами узнавания точки начала репликации на хромосомах и способствует загрузке на них белков Msm для образования пререпликативных комплексов.

CG-богатый островок (CpG-островок)

Участок ДНК с повышенной плотностью последовательностей CG; эти области обычно остаются метилированными.

ChIP — *смотри* иммунопреципитация хроматина

CKI — *смотри* белок-ингибитор Cdk

Cre/lox

Сайт-специфическая система рекомбинации, используемая для создания условных мутаций, при которых ген-мишень может быть удален в определенное время или в определенной ткани. Вводят сайт-специфическую рекомбиназу (Cre) под контролем промотора, который можно по необходимости активировать. Ген-мишень фланкируют последовательностями lox, на которые воздействует Cre, что приводит к вырезанию гена (рис. 5.79).

C-конец

Конец полипептидной цепи, несущий карбоксильную группу (-COOH) (рис. 3.1).

DAG — *смотри* диацилглицерин

***Drosophila melanogaster* (*D. melanogaster*, дрозофила)**

Вид мушек, часто называемый плодовой мушкой. Модельный организм молекулярной генетики.

E. coli — *смотри* *Escherichia coli*

EF — *смотри* фактор элонгации

eIF — *смотри* эукариотический фактор инициации

ER — *смотри* эндоплазматический ретикулум

ES-клетка — *смотри* эмбриональные стволовые клетки

***Escherichia coli* (*E. coli*)**

Палочковидная бактерия, в норме встречающаяся в кишечнике людей и других млекопитающих. Широко используется в биохимических исследованиях.

F₀F₁-АТРаза — *смотри* АТФ-синтаза

FAD/FADH₂ (флавинадениндинуклеотид/восстановленный флавинадениндинуклеотид)

Система электронного переноса, участвующая в цикле лимонной кислоты. Одна молекула FAD принимает два электрона и два протона и становится активированным переносчиком FADH₂ (рис. 2.83).

FAK — *смотри* протеинкиназа фокальной адгезии

Fas (белок Fas, рецептор смерти Fas)

Трансмембранный «рецептор смерти», инициирующий апоптоз при связывании внеклеточного лиганда (лиганда Fas) (рис. 18.6).

Fc-рецептор

Представитель семейства поверхностных рецепторов, связывающий хвостовой фрагмент (Fc-фрагмент) молекулы антитела (иммуноглобулина). Разные Fc-рецепторы специфичны к разным классам антител, например, IgG, IgA или IgE.

FISH — *смотри* флуоресцентная гибридизация *in situ*

FRAP — *смотри* восстановление флуоресценции после фотоотбеливания

FRET — *смотри* резонансный перенос энергии флуоресценции

G — *смотри* свободная энергия

G₀-фаза

Выход из фазы G₁ эукариотического клеточного цикла и вхождение в состояние покоя. Распространенное и зачастую постоянное состояние дифференцированных клеток.

G₁-Cdk

Комплекс циклин-Cdk клеток позвоночных, образованный G₁-циклином, и соответствующей циклин-зависимой киназой (Cdk) (табл. 17.1, стр. 1635).

G₁/S-Cdk

Комплекс циклин-Cdk клеток позвоночных, образованный G₁/S-циклином, и соответствующей циклин-зависимой киназой (Cdk) (рис. 17.16 и табл. 17.1, стр. 1635).

G₁/S-циклин

Циклин, активирующий Cdk в поздней G₁-фазе эукариотического клеточного цикла. Способствует прохождению через Старт и, следовательно, вхождению в клеточный цикл. Его уровень падает в начале S-фазы (рис. 17.16).

G₁-фаза

Промежуточная фаза 1 эукариотического цикла деления, протекающая между окончанием митоза и началом синтеза ДНК. (рис. 17.4)

G₁-циклин

Циклин, присутствующий в фазе G₁ эукариотического клеточного цикла. Образует комплексы с Cdk, управляющие активностью G₁/S-циклинов, контролирующих переход в S-фазу.

G₂-фаза

Промежуточная фаза 2 эукариотического цикла деления, протекающая между завершением синтеза ДНК и началом митоза (рис. 17.4).

GAG — *смотри* гликозаминогликан

GAP — *смотри* GTPаза-активирующий белок

gar-ген

В развитии *Drosophila melanogaster* ген, экспрессирующийся в определенных широких областях вдоль переднезадней оси раннего зародыша и способствующий закладке основных сегментов тела насекомого (рис. 22.37).

GEF — *смотри* фактор обмена гуаниновых нуклеотидов

GFP — *смотри* зеленый флуоресцентный белок

G_i — *смотри* ингибиторный G-белок

GPCR — *смотри* рецептор, сопряженный с G-белком

GPI-якорь (гликозилфосфатидилинозитольный якорь)

Связь с липидами, за счет которой многие мембранные белки прикрепляются к мембране. Белок по мере прохождения по эндоплазматическому ретикулуму

связывается с фосфатидилинозитольным якорем через олигосахаридный линкер (рис. 10.19(6)).

G_q

Класс G-белков, сопрягающих GPCR с фосфолипазой C-β для активации инозитолфосфолипидного сигнального пути.

G_s — смотри стимулирующий G-белок

GTP (гуанозин-5'-трифосфат; ГТФ)

Нуклеозидтрифосфат, образующийся в результате фосфорилирования GDP (гуанозиндифосфата). Как и в случае АТФ, при гидролизе по терминальной фосфатной группе высвобождается большое количество свободной энергии. Играет важную роль в сборке микротрубочек, синтезе белков и клеточной сигнализации (рис. 2.83).

GTPаза

Фермент, превращающий GTP в GDP. Существует два крупных семейства GTPаз. Крупные **тримерные G-белки** состоят из трех различных субъединиц и, в первую очередь, сопрягают GPCR с ферментами или ионными каналами в плазматической мембране. **Малые мономерные GTP-связывающие белки** (также называемые **мономерными GTPазами**) состоят из одной субъединицы и способствуют передаче сигнала от разнообразных поверхностных рецепторов. Они также играют роль во внутриклеточных сигнальных путях, регулируя внутриклеточный везикулярный транспорт и сигнализацию цитоскелета. Тримерные G-белки и мономерные GTPазы переходят из активной GTP-связанной формы в неактивную GDP-связанную форму и во внутриклеточных сигнальных путях часто выполняют функцию молекулярных переключателей. (рис. 15.19)

GTPаза-активирующий белок (GAP)

Белок, связывающий и ингибирующий GTPазу за счет стимуляции ее GTPазной активности, т.е. «заставляет» фермент гидролизовать связанный с ним GTP до GDP (рис. 3.71).

GTP-связывающий белок — смотри GTPаза

G-белок (тримерный GTP-связывающий белок)

Обладающий GTPазной активностью тримерный GTP-связывающий белок. В плазматической мембране сопрягает GPCR с ферментами или ионными каналами (табл. 15.3, стр. 1412).

H⁻ — смотри гидрид-ион

H⁺ — смотри протон

HeLa

«Бессмертная» линия эпителиальных клеток человека, хорошо растущая в культуре. Была выделена в 1951 году из раковой опухоли шейки матки.

HLH — смотри спираль-петля-спираль

Hox — смотри комплекс генов Hox

HTH — смотри спираль-виток спираль

H-цепь — смотри тяжелая цепь

IAP — *смотри* семейство ингибиторов апоптоза

IF — *смотри* фактор инициации

Ig — *смотри* антитело

in vitro

Происходящее в выделенном бесклеточном экстракте, а не в живой клетке; термин также иногда используется для подчеркивания различий между экспериментами на клеточных культурах и на интактных организмах (переводится с латыни как «в стекле»).

in vivo

В интактной клетке или организме (переводится с латыни как «в живом»).

IP₃ — *смотри* инозитол-1,4,5-трисфосфат

IP₃-рецептор (IP₃-зависимый Ca²⁺-канал)

Ca²⁺-канал мембраны эндоплазматического ретикулума, открывающийся при связывании цитоплазматического IP₃. Это приводит к высвобождению Ca²⁺ в цитозоль (рис. 15.39).

IRES — *смотри* участок внутренней посадки рибосомы

JAK-STAT — *смотри* сигнальный путь JAK-STAT

K — *смотри* константа равновесия

K_a — *смотри* константа сродства

K_d — *смотри* константа диссоциации

K_M

Константа Михаэлиса-Ментен. Равна концентрации субстрата, при которой фермент работает со скоростью, равной половине максимальной. Большие величины K_M обычно указывают на то, что фермент связывается с субстратом с относительно низким сродством (приложение 3.3).

L-цепь — *смотри* тяжелая цепь

LRR — *смотри* белок, обогащенный лейциновыми повторами

M6P — *смотри* маннозо-6-фосфат

MAP — *смотри* ассоциированный с микротрубочками белок

MAP-киназа (митоген-активируемая протеинкиназа)

Последняя протеинкиназа трехкомпонентного сигнального модуля, участвующего в передаче сигнала от плазматической мембраны в ядро.

MAP-киназный модуль (митоген-активируемый протеинкиназный модуль)

Внутриклеточный сигнальный модуль, состоящий из трех протеинкиназ, работающих последовательно. Обычно активируется белком Ras в ответ на внеклеточные сигналы (рис. 15.78).

Mat-локус — *смотри* локус типа спаривания

M-Cdk (Cdk M-фазы)

Комплекс циклин-Cdk, образованный в клетках позвоночных M-циклином и со-

ответствующей циклин-зависимой протеинкиназой (Cdk) (рис. 17.16 и табл. 17.1, стр. 1635).

МНС-комплекс (главный комплекс гистосовместимости; ГКГС)

Комплекс генов позвоночных, кодирующий большое семейство поверхностных гликопротеинов (белков МНС) (рис. 25.51).

miРНК — *смотри* микроРНК

МТОС — *смотри* центр организации микротрубочек

mTOR (мишень рапамицина млекопитающих)

Серин-треониновая протеинкиназа млекопитающих, участвующая в сигнальном пути PI 3-киназа/Akt. mTOR (гомолог дрожжей называется TOR) входит в состав двух разных комплексов, один из которых чувствителен к лекарству рапамицину и стимулирует рост клеток, а второй способствует активации протеинкиназы Akt (рис. 15.64 и 15.65).

Мyc

Белок-регулятор генов, активируемый при стимуляции клетки внеклеточными сигналами роста и деления. Активирует транскрипцию многих генов, включая гены клеточного роста (рис. 17.62).

Na⁺/K⁺-насос (Na⁺/K⁺-АТРаза, Na⁺/K⁺-помпа)

Трансмембранный белок-переносчик плазматической мембраны животных клеток, откачивающий Na⁺ наружу и закачивающий K⁺ внутрь за счет энергии гидролиза АТР (рис. 11.14).

NADH-дегидрогеназный комплекс (комплекс I)

Первый из трех электрон-зависимых протонных насосов дыхательной цепи митохондрий. Принимает электроны от NADH (рис. 14.26).

NADP⁺/NADPH (никотинамидадениндинуклеотидфосфат/восстановленный никотинамидадениндинуклеотидфосфат)

Система переноса электрона, родственная NAD⁺/NADH, но используемая, в основном, в восстановительных биосинтетических, а не катаболических, путях (рис. 2.60).

NCAM — *смотри* молекула адгезии нервных клеток

NFkB — *смотри* белок NFkB

NK-клетка — *смотри* естественный киллер

NO — *смотри* оксид азота

Notch

Трансмембранный рецепторный белок, передающий сигналы, управляющие экспрессией генов. Сигналы, передаваемые рецептором Notch, участвуют во многих процессах, определяющих судьбы клеток животных в ходе их развития. Например, играет роль в отделении нервных клеток от эктодермального эпителия. Его лигандами служат поверхностные белки, например, Delta и Serrate (рис. 15.76).

NO-синтаза (NOS)

Фермент, синтезирующий оксид азота (NO) путем дезаминирования аргинина (рис. 15.12, б).

NPC — *смотри* ядерный поровый комплекс

NSF (фактор, чувствительный к N-этилмалеимиду)

Обладающий АТФазной активностью белок, разбирающий комплекс v-SNARE и t-SNARE (рис. 13.18 и 13.22).

NSL — *смотри* сигнал ядерной локализации

N-конец

Конец полипептидной цепи, несущий свободную α -аминогруппу (рис. 3.1).

N-связанный олигосахарид

Цепочка сахаров, присоединенная к белку через NH_2 -группу боковой цепи остатка аспарагина. *Сравни* O-связанный олигосахарид.

ORC — *смотри* комплекс узнавания точки начала репликации

ORF — *смотри* открытая рамка считывания

O-связанный олигосахарид

Цепочка сахаров, присоединенных к белку через OH-группу остатка серина или треонина. *Сравни* N-связанный олигосахарид (рис. 13.32).

p53

Опухолевый супрессор, кодируется геном TP53, мутации которого обнаруживаются в клетках около 50% раковых опухолей. Представляет собой транскрипционный фактор, активируемый повреждением ДНК, и участвует в блокировке дальнейшего прохождения клеточного цикла (рис. 20.37 и 20.40).

Par3, Par6

Каркасные белки, участвующие в определении полярности отдельных животных клеток; Par3 и Par6 формируют комплекс с атипичной протеинкиназой C (aPKC). (рис. 19.31)

PDZ-домен

Белок-связывающий домен, свойственный многим каркасным (скэффолд) белкам и часто используемый в качестве сайта связывания внутриклеточных хвостов трансмембранных белков (рис. 19.21).

pH

Широко используемая мера кислотности раствора: «р» относится к степени 10, «Н» - к водороду. Определяется как отрицательный десятичный логарифм концентрации ионов водорода в молях на литр (М). $\text{pH} = -\lg[\text{H}^+]$. Таким образом, раствор с pH 3 будет содержать 10^{-3} М ионов водорода. pH меньше 7 соответствует кислому раствору, больше 7 — щелочному.

PH-домен — *смотри* плекстрин-гомологичный домен

pI — *смотри* изоэлектрическая точка

PI3-киназа — *смотри* фосфоинозитид-3-киназа

PKA — *смотри* циклоАМР-зависимая протеинкиназа

PKB — *смотри* Akt

PKC — *смотри* протеинкиназа C

PLC — смотри фосфолипаза C**Rab (белок Rab)**

Мономерная GTPаза суперсемейства Ras, встречающаяся в плазматической мембране и мембранах органелл. Участвует в обеспечении специфичности докинга везикул. (табл. 15.5, стр. 1423)

Ran (белок Ran)

Мономерная GTPаза суперсемейства Ras, присутствующая как в цитозоле, так и в ядре. Необходима для активного импорта и экспорта макромолекул из ядра через ядерные поровые комплексы (табл. 15.5, стр. 1423).

Ras (белок Ras)

Мономерная GTPаза суперсемейства Ras, передающая сигналы от поверхностных RTK в ядро, часто в ответ на сигналы, стимулирующие деление клеток. Своим названием этот белок обязан гену *ras*, который впервые обнаружен в геноме онковируса, вызывающего саркому у крыс (*rat sarcomas*) (рис. 3.72).

Rb — смотри белок ретинобластомы**RecA (белок RecA)**

Прототип класса ДНК-связывающих белков, катализирующих синапсис цепей ДНК при генетической рекомбинации (рис. 5.56).

RGD — смотри последовательность RGD**RGS — смотри регулятор сигнализации G-белков****Rho (семейство белков Rho)**

Семейство мономерных GTPаз в составе суперсемейства Ras, участвующее в сигнализации перестройки цитоскелета. Включает в себя Rho, Rac и Cdc42 (табл. 15.5, стр. 1423).

RTK — смотри рецепторная тирозинкиназа***Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*)**

Почкующиеся дрожжи рода *Saccharomyces*. *S. cerevisiae* — первый эукариот, геном которого был полностью секвенирован (1996 г.).

***Schizosaccharomyces pombe* (*S. pombe*)**

Делящиеся дрожжи рода *Schizosaccharomyces*.

Saccharomyces

Род дрожжей, размножающихся бесполом способом — путем почкования, или половым — путем конъюгации. Играют важную роль в пищевой промышленности, поскольку широко используются в пивоварении и хлебопечении. *Saccharomyces cerevisiae* служат простым модельным организмом в исследованиях эукариотических клеток. *Смотри также Schizosaccharomyces*.

S-Cdk

Комплекс циклин-Cdk, образованный в клетках позвоночных S-циклином и соответствующей циклин-зависимой протеинкиназой (Cdk) (рис. 17.16 и табл. 17.1, стр. 1635).

SCF (белок SCF)

Семейство убиквитинлигаз, представляющих собой комплекс нескольких

различных белков. Один из белков SCF участвует в регуляции эукариотического клеточного цикла и направляет разрушение ингибиторов S-Cdk в поздней G_1 -фазе, что способствует активации S-Cdk и репликации ДНК (рис. 3.79 и 17.20).

Schizosaccharomyces

Род палочковидных дрожжей, размножающихся бинарным делением. *S. pombe*, наравне с почкующимися дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*, служит модельным организмом во многих молекулярно-биологических исследованиях.

siРНК — *смотри* малая интерферирующая РНК

SH2-домен

Src-гомологичный участок 2-белковый домен, свойственный многим сигнальным белкам. Связывает короткую аминокислотную последовательность, содержащую фосфотирозин (приложение 3.2, стр. 200–201).

SNARE

Представитель крупного семейства трансмембранных белков, присутствующих в мембранах органелл и формирующихся из них везикул. Белки SNARE катализируют в клетках многие процессы слияния мембран. Они работают в паре: v-SNARE в мембране везикул специфически связывает комплементарный t-SNARE в мембране-мишени.

snРНК — *смотри* малая ядерная РНК

spoРНК — *смотри* малая ядрышковая РНК

SNP — *смотри* однонуклеотидный полиморфизм

Src (белковое семейство Src)

Семейство цитоплазматических тирозинкиназ (произносится как «сарк»), связывающихся с цитоплазматическими доменами некоторых связанных с ферментами поверхностных рецепторов (например, рецептором антигенов Т-клеток), не обладающих собственной тирозинкиназной активностью. Они передают сигнал путем фосфорилирования по тирозинам самого рецептора и сигнальных белков (рис. 3.10 и 15.70).

SRP — *смотри* сигнал-узнающая частица

SSB-белки — *смотри* белки, связывающие одноцепочечную ДНК

STAT (переносчик сигнала и активатор транскрипции)

Семейство транскрипционных факторов, активируемых фосфорилированием JAK-киназами в ответ на активацию рецепторов цитокинов (рис. 15.68).

S-фаза

Стадия эукариотического клеточного цикла, во время которой происходит синтез ДНК.

S-циклин

Представитель класса циклинов, накапливающийся в поздней G_1 -фазе и связывающий Cdk вскоре после прохождения Старта; способствует стимуляции репликации ДНК и удвоения хромосом. Его концентрация остается высокой до позднего митоза, после чего он разрушается. (рис. 17.16)

tap-tagging — *смотри* тандемная аффинная очистка

TATA-бокс

Последовательность промоторной области многих эукариотических генов, связывающая общий фактор транскрипции и, следовательно, определяющая место, где начнется транскрипция (рис. 6.16 и 6.17).

TGF β — *смотри* суперсемейство TGF β

TIM — *смотри* комплекс TIM

TLR — *смотри* семейство Toll-подобных рецепторов

TNF α — *смотри* фактор некроза опухолей

TOM — *смотри* комплекс TOM

t-SNARE — *смотри* SNARE

UTR — *смотри* нетранслируемый участок

V(D)J рекомбинация — *смотри* специфическая соматическая рекомбинация

VEGF — *смотри* фактор роста эндотелия сосудов

V_{\max}

Максимальная скорость ферментативной реакции (рис. 3.45 и приложение 3.3, стр. 244–245).

v-SNARE — *смотри* SNARE

V-генный сегмент

Генный сегмент, кодирующий наиболее вариабельный фрагмент полипептидной цепи иммуноглобулина или T-клеточного рецептора.

Wee1

Протеинкиназа, ингибирующая активность Cdk путем фосфорилирования аминокислот в активном сайте Cdk. Важна для регуляции вхождения в M-фазу клеточного цикла.

Wnt (белок Wnt)

Представитель семейства секретируемых сигнальных белков, выполняющий различные функции в контроле дифференцировки и пролиферации клеток и генной экспрессии в зародышах и взрослых тканях животных. *Смотри также* сигнальный путь Wnt.

***Xenopus laevis* (южноафриканская шпорцевая лягушка)**

Вид лягушек, часто используемый в исследованиях раннего развития позвоночных.

XIC — *смотри* центр инактивации X-хромосомы

X-хромосома

Одна из двух половых хромосом млекопитающих. Клетки самок несут две X-хромосомы, самцов — только одну.

Y-хромосома

Одна из двух половых хромосом млекопитающих. Клетки самцов несут одну Y и одну X хромосому.

zona pellucida (блестящая оболочка, *реже*: вителлиновый слой)

Гликопротеидный слой на поверхности неоплодотворенной яйцеклетки. Часто служит барьером межвидового оплодотворения (рис. 21.22).

Z-диск (Z-линия)

Плоская пластинка в мышечном саркомере, с которой связываются плюс-концы актиновых филаментов. На микрофотографиях выглядит как темная поперечная линия.

 α -спираль (альфа-спираль)

Распространенная форма вторичной структуры белков, при которой линейная последовательность аминокислот сворачивается в правозакрученную спираль, стабилизируемую внутренними водородными связями между атомами углеродного скелета. (рис. 3.7)

 β -катенин

Многофункциональный цитоплазматический белок, участвующий в кадгерин-опосредованной межклеточной адгезии и связывающий кадгеринины с актиновым цитоскелетом. Также может действовать независимо в качестве белка-регулятора генов. Играет важную роль в развитии животных в составе сигнального пути Wnt.

 β -лист

Распространенный белковый структурный мотив, в котором различные участки полипептидной цепи располагаются рядом друг с другом и удерживаются водородными связями между атомами полипептидного углеродного скелета. Также известен как бета-структура. (рис. 3.7)

γ -TuRC — *смотри* кольцевой комплекс γ -тубулина

ΔG — *смотри* изменение свободной энергии

ΔG° — *смотри* изменение стандартной свободной энергии

авидность

Характеристика стабильности комплекса антиген/антитело. Отличается от *аффинности* антитела тем, что отражает силу взаимодействия не одного *антигенсвязывающего* участка антитела с одним *эпитопом* антигена, а силу взаимодействия всех антигенсвязывающих участков одной молекулы антитела со всеми эпитопами.

автономно реплицирующаяся последовательность (ARS)

Точка начала репликации (ориджин) дрожжевой ДНК.

адаптация

(1) Адаптация (приспособление, десенсибилизация): Изменение чувствительности в результате повторной стимуляции. Механизм, позволяющий клеткам реагировать на небольшие изменения стимула даже при большом фоновом уровне стимуляции. (2) Эволюционная адаптация: эволюционировавший признак.

адаптерный белок

Общее название белков, основной функцией которых является связывание двух и более разных белков вместе во внутриклеточном сигнальном пути или белковом комплексе. (рис. 15.22)

адгезионный контакт

Клеточный контакт, при котором цитоплазматическая поверхность плазматической мембраны связана с актиновыми филаментами. Примерами являются адгезионные пояски, связывающие соседние эпителиальные клетки, и фокальные контакты на нижней поверхности фибробластов в культуре.

адгезионный пояс

Непрерывная цепочка адгезионных соединений, расположенная под апикальной поверхностью эпителия.

аденилатциклаза (аденилилциклаза)

Мембраносвязанный фермент, катализирующий образование циклического АМР из АТР. Важный компонент некоторых внутриклеточных сигнальных путей.

аденозинтрифосфат — смотри АТР**адреналин (эпинефрин)**

Гормон, высвобождающийся из хромаффинных клеток надпочечников в ответ на стресс. Связывается со специфическими GPCR. Способен запускать и регулировать ответ «борьба или бегство», включающий в себя учащение сердцебиения и увеличения уровня сахара в крови. Также является катехоламиновым нейромедиатором.

АДФ — смотри ADP**акросома**

Везикула в передней части головки сперматозоида, содержащая гидролитические ферменты, используемые для расщепления защитной оболочки яйцеклетки. Когда сперматозоид начинает входить в яйцеклетку, содержимое пузырька высвобождается (акросомальная реакция), помогая сперматозоиду преодолеть *zona pellucida* (блестящую оболочку). (рис. 21.33 и 21.27)

аксон

Длинный отросток нерва, способный передавать нервные импульсы на дальние расстояния для сигнализации другим клеткам.

аксональный транспорт

Направленный внутриклеточный транспорт органелл и молекул вдоль аксона нервной клетки. Может быть anterogradным (от тела клетки) или retrogradным (к телу клетки).

аксонема

В эукариотических клетках пучок микротрубочек и связанных с ними белков, образующий сердцевину реснички или жгутика и отвечающий за их движение.

активатор (белок-активатор гена, активатор транскрипции)

Белок, который при связывании с регуляторной последовательностью ДНК гена активирует ее транскрипцию.

активатор транскрипции — смотри активатор**активированный переносчик**

Небольшая диффундирующая молекула, запасующая энергию в форме одной или нескольких высокоэнергетических ковалентных связей. При необходимости

эту энергию легко использовать. К таким молекулам относятся АТФ, ацетил-КоА, $FADH_2$, $NADH$ и $NADPH$. (рис. 2.55)

активный сайт (активный участок)

Область на поверхности фермента, где связывается молекула субстрата, чтобы претерпеть катализируемое ферментом химическое превращение (рис. 1.7).

активный транспорт

Движение молекулы через мембрану или другой барьер за счет энергии, отличной от энергии, запасенной в электрохимическом или концентрационном градиенте транспортируемой молекулы.

актин

Широко распространенный белок, формирующий актиновые филаменты во всех эукариотических клетках. Мономерную форму иногда называют глобулярным, или G-актином, а полимерную — филаментным, или F-актином (приложение 16.1, стр. 1484, и рис. 16.12).

актиновый филамент (микрофиламент)

Спиральный белковый филамент, образующийся в результате полимеризации глобулярных актиновых молекул. Является важным составляющим цитоскелета всех эукариотических клеток и частью сократительного аппарата скелетных мышц (приложение 16.1, стр. 1484).

актиноподобный белок — смотри комплекс ARP

актин-связывающий белок

Белок, связывающий в клетках актиновые мономеры или актиновые филаменты и изменяющий их свойства. В этим белкам относятся, например, миозин, α -актинин и профилин (приложение 16.3, стр. 1524–1525).

акцептор электронов

Атомы или молекулы, легко принимающие электроны, то есть легко восстанавливающиеся.

алкильная группа (C_nH_{2n+1})

Общее название группы ковалентно связанных атомов углерода и водорода, например, метильная ($-CH_3$) или этильная ($-CH_2CH_3$) группы. Обычно входят в состав более крупных органических молекул. Сами по себе образуют очень реакционноспособные свободные радикалы.

аллель

Одна из нескольких альтернативных форм гена. В диплоидной клетке каждый ген обычно может обладать двумя аллелями, занимающими соответствующее положение (локус) в гомологичных хромосомах.

аллельное исключение

Экспрессия белка только с одного из двух аллелей гена, кодирующего белок клетки. Происходит, например, при экспрессии иммуноглобулина, рецепторного комплекса Т-клетки или обонятельного рецептора, а также в геном импринтинге.

аллостерия (прилагательное аллостерический)

Изменение конформации белка, вызванное связыванием регуляторного лиганда (в сайте, отличном от каталитического сайта белка) или ковалентной модификации

ей. Изменение конформации изменяет активность белка и может лежать в основе направленного движения (рис. 3.58 и 16.61).

альвеолы (единственное число: альвеола)

Маленькие расширенные выпячивания эпителия, свойственные, в особенности, эпителию легких, где они формируют миллионы заполненных воздухом мешочков. Сходные структуры встречаются в секреторном эпителии молочных желез.

альдегид

Органическое соединение, несущее группу [-CO-H]. Пример: глицеральдегид. Может быть окислен до кислоты или восстановлен до спирта (приложение 2.1, стр. 172–173).

альтернативный сплайсинг РНК

Образование из одного гена разных РНК за счет нескольких разных вариантов сплайсинга транскрипта (рис. 7.94).

амеба

Хищное или миксотрофное одноклеточное простейшее, ползающее при помощи псевдоподий.

амид

Органическое соединение — производное карбоновой кислоты, в которой гидроксил карбоксильной группы, -COOH, замещен на аминогруппу, -NH₂. Общая формула амидов R-CO-NH₂ (приложение 2.1, стр. 172–173).

амин

Органическое соединение — производное аммиака, в котором один или более атомов водорода замещены на углеводородные радикалы (приложение 2.1, стр. 172–173).

аминоацил-тРНК-синтетаза

Фермент, присоединяющий соответствующую аминокислоту к молекуле тРНК с образованием аминоацил-тРНК (рис. 6.57).

аминогруппа (-NH₂)

Слабоосновная функциональная группа, образующаяся из аммиака (NH₃), и в которой один или более атомов водорода заменены другими атомами. В водном растворе может связывать протон и нести положительный заряд (-NH₃⁺).

аминокислота

Органическая молекула, несущая одновременно аминогруппу и карбоксильную группу. Строительными блоками белков служат α-аминокислоты, в которых аминогруппа и карбоксильная группа связаны с одним и тем же атомом углерода (NH₂CHR₂COOH, приложение 3.1, стр. 194–195).

АМФ — смотри АМР (аденозин-5'-монофосфат)

амфифильный

Обладает гидрофобными и гидрофильными участками, как, например, фосфолипид или молекула детергента.

анаболизм (биосинтез)

Образование живыми клетками сложных молекул из простых соединений (рис. 2.36).

анафаза

(1) Стадия митоза, во время которой расходятся сестринские хроматиды. Складывается из анафазы А (хромосомы движутся в направлении полюсов веретена деления) и анафазы Б (движения в противоположных направлениях полюсов веретена). (2) Анафаза I и II: стадии мейоза, во время которых расходятся гомологичные пары хромосом (I), а затем – сестринские хроматиды (II) (приложение 17.1, стр. 1648–1649).

анаэробный

Процесс, требующий или протекающий в отсутствие молекулярного кислорода (O_2).

ангиогенез

Рост новых кровеносных сосудов путем ветвления и разрастания уже существующих.

ангстрем (Å)

Единица длины, используемая для измерения размеров атомов и молекул. Равна 10^{-10} метра или 0.1 нанометра (нм).

анимальный полюс

В содержащих желток яйцеклетках полюс, расположенный напротив желтка. Клетки, развивающиеся из анимального полюса, будут отличаться от клеток вегетативного (содержащего желток) полюса (рис. 22.68).

анион

Отрицательно заряженный ион.

антенный комплекс

Часть фотосистемы, улавливающая энергию света и направляющая ее в фотохимический реакционноспособный центр. Состоит из белковых комплексов и связанных с ними многочисленных молекул хлорофилла и других пигментов.

антибиотик

Вещество, например, пенициллин или стрептомицин, токсичное для микроорганизмов. Часто вырабатывается определенным микроорганизмом или растением.

антиген

Молекула, способная вызывать приобретенный иммунный ответ или связываться с антителом или рецептором Т-клетки.

антигенная детерминанта (эпитоп)

Специфический участок антигена, связывающий антитело или рецептор Т-клетки.

антигенная изменчивость

Способность к изменению антигенов, расположенных на поверхности клеток; свойство некоторых патогенных микроорганизмов, позволяющее им избегать атак системы адаптивного (приобретенного) иммунитета.

антигенпрезентирующая клетка

Клетка, несущая на поверхности фрагменты антигена в комплексе с белками МНС II класса для представления их Т-лимфоцитам.

антикодон

Последовательность трех нуклеотидов в молекуле транспортной РНК (тРНК), комплементарная тринуклеотидному кодону молекулы матричной РНК (мРНК).

антинейронный ген — смотри пронеуронный ген**антипараллельный**

Относительная ориентация двух цепей двойной спирали ДНК или двух спаренных областей полипептидной цепи: одна цепь ориентирована противоположным образом по отношению к другой.

антипорт

Белок-переносчик, одновременно или последовательно транспортирующий через мембрану в противоположных направлениях два различных иона или две малые молекулы.

антисмысловая РНК

РНК, комплементарная РНК-транскрипту гена. Может гибридизироваться с комплементарной РНК и блокировать ее функцию.

антитело (иммуноглобулин, Ig)

Белок, синтезируемый В-клетками в ответ на чужеродную молекулу или микроорганизм. Связывается с чужеродной молекулой или клеткой, инактивируя ее или помечая для разрушения фагоцитами или комплемент-зависимым лизисом.

апикальная меристема

Растущий кончик растительного побега или корня, состоящий из делящихся недифференцированных клеток (приложение 22.1, **стр. 2144**).

апикальный

Относится к концевому участку клетки, структуры или органа. Апикальная поверхность эпителиальной клетки — это экспонированная свободная поверхность, противоположная базальной поверхности. Базальная поверхность соприкасается с базальной пластинкой, отделяющей эпителий от других тканей.

апоптоз

Форма запрограммированной клеточной смерти, при которой в животной клетке активируется программа «самоубийства», приводящая к быстрой гибели клетки. Опосредуется внутриклеточными протеолитическими ферментами каспазами.

аппарат Гольджи (комплекс Гольджи)

Сложная органелла всех эукариотических клеток, состоящая из стопки уплощенных мембранных мешочков, в которых происходит модификация и сортировка пришедших из эндоплазматического ретикулума белков и липидов. В растениях это место синтеза многих полисахаридов клеточной стенки, а у животных — гликозаминогликанов внеклеточного матрикса (рис. 13.25).

арабидопсис — смотри *Arabidopsis thaliana***ароматические соединения**

Органические соединения, которые образованы углеродными атомами, соединенными в кольцевую структуру посредством чередующихся двойных и одинарных связей. Часто молекулы, родственные бензолу.

археи (археобактерии)

Одноклеточные безъядерные организмы, напоминающие бактерии. На молекулярном уровне по метаболическим процессам больше напоминают бактерии, а по генетическому аппарату — эукариот. Вместе Археи и Бактерии охватывают все многообразие Прокариот (рис. 1.21).

ассоциированный с микротрубочками белок (МАР)

Любой белок, связывающий микротрубочки и изменяющий их свойства. Обнаружено множество различных типов, включая структурные белки, такие как МАР2, и моторные белки, такие как динеин. [Не путать с «МАР» (митоген-активируемой протеинкиназой) в «МАР-киназе».]

астральная микротрубочка

В митотическом веретене деления любая микротрубочка, исходящая из звезды и не прикрепленная к кинетохору или хромосоме.

атипичная протеинкиназа (аРКС)

Атипичная форма протеинкиназы С (РКС), для активации которой не требуются Ca^{2+} и фосфатидилсерин. Одна из аРКС участвует в определении полярности некоторых клеток животных.

аттенуация транскрипции

Ингибирование экспрессии гена путем преждевременной остановки транскрипции.

ауксин

Растительный гормон, обычно, индолил-3-уксусная кислота, играющий большую роль в росте и развитии растений.

аутоиммунное заболевание, аутоиммунный ответ

Патологическое состояние, при котором организм направляет приобретенный иммунный ответ против одной или нескольких своих молекул.

аутокринная сигнализация

Когда клетка секретирует сигнальные молекулы, действующие на нее саму.

аутосома

Хромосома, которая в одинаковом количестве присутствует в кариотипе как самцов, так и самок, в отличие от половых хромосом. При этом следует отметить, что у млекопитающих для некоторых аутосомных генов их проявление зависит от пола того родителя, от которого передан этот ген. Смотри: геномный импринтинг.

аутофагия

Переваривание старых или поврежденных органелл лизосомами клетки.

аффинная хроматография

Разновидность хроматографии, в которой белковая смесь очищается при пропускании через сорбент, несущий специфические лиганды целевого белка. Таким образом, нужный белок задерживается на сорбенте. (рис. 8.13)

аффинное созревание

Постепенное увеличение сродства антител к иммунизирующему антигену после иммунизации.

ацетил, ацетильная группа (-COCH₃)

Химическая группа, производное уксусной кислоты (CH₃COOH). Ацетильные группы играют важную роль в метаболизме, а также ковалентно присоединяются к некоторым белкам в процессе посттрансляционной модификации

ацетил-КоА — смотри acetylCoA**ацетилхолин (ACh, АцХ)**

Нейромедиатор, действующий в холинэргических рецепторах. Обнаруживается в мозге и периферической нервной системе. Нейромедиатор нервно-мышечных соединений позвоночных.

ацетилхолиновый рецептор (AChR, АХР)

Мембранный белок, чувствительный к связыванию ацетилхолина (ACh). Никотиновый AChR — это медиатор-чувствительный ионный канал, открывающийся в ответ на ACh. Мускариновый AChR представляет собой не ионный канал, а расположенный на поверхности клетки сопряженный с G-белком рецептор.

ацильная группа (R-CO)

Функциональная группа, образуемая из карбоновой кислоты (R-CO-OH).

аэробный

Процесс, требующий или протекающий в присутствии молекулярного кислорода (O₂).

базальная пластинка (базальная ламина, базальная мембрана)

Тонкий слой внеклеточного матрикса, отделяющий слои эпителия и других типов клеток, например, мышечных или жировых, от соединительной ткани. Иногда ее называют базальной мембраной.

базальное тельце

Состоящая из микротрубочек и ассоциированных с ними белков короткая цилиндрическая структура в основании реснички или жгутика эукариотической клетки. Служит сайтом нуклеации для роста аксонемы. По строению очень похоже на центриоль.

базальный

Расположенный вблизи основания, напротив апикальной поверхности.

бактериальная искусственная хромосома (BAC)

Вектор клонирования, в который можно встраивать крупные участки ДНК длиной до 1 миллиона пар оснований.

бактериородопсин

Пигментный белок, располагающийся в плазматической мембране соелюбивых архей *Halobacterium salinarum* (*Halobacterium halobium*). Выкачивает протоны из клетки в ответ на свет. (рис. 10.33)

бактериофаг (фаг)

Любой вирус, заражающий бактерий. Фаги были первыми организмами, на которых исследовали основы молекулярной генетики, и в настоящее время их широко используют в качестве векторов клонирования. *Смотри также* бактериофаг лямбда.

бактериофаг лямбда (бактериофаг λ , лямбда)

Вирус, заражающий *E. coli*. Широко используется в качестве вектора клонирования ДНК.

бактерия (эубактерия)

Представитель надцарства бактерий — одной из трех основных ветвей древа жизни (Археи, Бактерии и Эукариоты). У бактерий и архей отсутствует выраженный ядерный компартмент, и поэтому вместе они представляют все многообразие мира Прокариот (рис. 1.21).

безоболочечный вирус

Вирус, состоящий только из нуклеиновой кислоты и белкового капсида (рис. 24.24, *в* и *г*).

белая клетка крови (лейкоцит)

Общее название всех ядерных клеток крови, лишенных гемоглобина. Включает в себя лимфоциты, гранулоциты и моноциты.

белки Мсм

Белки, необходимые эукариотической клетке для инициации репликации ДНК; считается, что в движущихся репликационных вилках они образуют хеликазу.

белки, связывающие одноцепочечную ДНК (SSB-белки)

Белок, связывающий отдельные нити расплетенной двойной спирали ДНК и не позволяющий спиральным структурам восстанавливаться в процессе репликации ДНК (рис. 5.16).

белковый домен — *смотри* домен**белковый транслокатор**

Мембраносвязанный белок, опосредующий транспорт другого белка через мембрану (рис. 12.23).

белок

Основной макромолекулярный компонент клеток. Линейный полимер, состоящий из связанных в определенной последовательности пептидными связями аминокислот (рис. 3.1).

белок E2F

Белок-регулятор генов, воздействующий на многие гены, кодирующие белки вхождения в S-фазу клеточного цикла.

белок Hedgehog

Секретируемая внеклеточная сигнальная молекула, выполняющая множество функций в контроле дифференцировки клеток и экспрессии генов в зародышах и взрослых тканях животных. Повышенная экспрессия Hedgehog может привести к раку.

белок MDR — *смотри* белок множественной лекарственной устойчивости

белок MHC

Представитель семейства поверхностных гликопротеинов позвоночных, принадлежащих к суперсемейству иммуноглобулинов. Белки MHC связывают фрагменты

антигенов и презентуют их Т-клеткам для запуска приобретенного иммунного ответа. Смотри также белки МНС класса I, белки МНС класса II (рис. 25.49 и 25.50).

белок NFκB

Семейство транскрипционных факторов, активируемых различными внутриклеточными сигнальными путями при стимуляции клеток во время иммунных, воспалительных или стрессовых ответов. Некоторые члены семейства играют важную роль в эмбриональном развитии (рис. 15.79).

белок Smad

Семейство транскрипционных факторов, фосфорилируемых и активируемых рецепторными серинтреониновыми киназами. Передает сигнал от активированных рецепторов суперсемейства TGF-beta (рис. 15.69).

белок аденоматозного полипоза толстой кишки (APC)

Белок, подавляющий рост опухоли и образующийся в каноническом сигнальном пути Wnt. Рекрутирует свободный цитоплазматический β-катенин и деградирует его.

белок hnRNP (гетерогенный ядерный рибонуклеопротеид; гяРNP)

Группа белков, собирающаяся на новосинтезированной РНК и заставляющая ее принять более компактную форму (рис. 6.33).

белок множественной лекарственной устойчивости (белок MDR)

Разновидность ABC-переносчиков, способный откачивать гидрофобные лекарства (например, некоторые противораковые препараты) из цитоплазмы эукариотических клеток.

белок ретинобластомы (Rb)

Опухолевый супрессор, участвующий в регуляции клеточного деления. Мутации в гене Rb приводят к развитию ретинобластомы, а также часто встречаются во многих других опухолях. В норме Rb регулирует эукариотический клеточный цикл путем связывания и ингибирования белков E2F, то есть путем блокировки дальнейшей репликации ДНК и клеточного деления (рис. 17.62).

белки теплового шока (БТШ, Hsp)

Крупное белковое семейство консервативных молекулярных шаперонов, названных таким образом потому, что они в большом количестве синтезируются в ответ на повышенную температуру или другие виды стресса. Hsp играют важную роль в правильном сворачивании белков. Особенно важны Hsp60 и Hsp70.

белок, обогащенный лейциновыми повторами (LRR-белок)

Термин LRR используют для обозначения характерной подковообразной структуры, которую образуют tandemные обогащенные лейцином повторы. LRR-домены участвуют в различных белок-белковых взаимодействиях, а также формируют внеклеточные домены разнообразных рецепторов, связывающих эндогенные лиганды или фрагменты патогенов: рецепторные серинтреониновые киназы растений, Toll-подобные рецепторы млекопитающих и даже антиген-специфические рецепторы круглоротых.

белок-активатор гена — смотри активатор

белок-ингибитор Cdk (CKI)

Белок, связывающий и ингибирующий комплексы циклин-Cdk. Участвует, в первую очередь, в контроле фаз G₁ и S.

белок-регулятор гена — *смотри* транскрипционный фактор

белок-репрессор гена — *смотри* репрессор

бесклеточная система

Очищенный клеточный гомогенат, сохраняющий определенную биологическую функцию интактной клетки. Позволяет легко изучать биохимические реакции и клеточные процессы.

бесполое размножение

Любой тип размножения (например, почкование гидры, деление бактерий или митотическое деление эукариотических организмов), при котором не происходит смешивания двух различных геномов. Приводит к образованию организмов, генетически идентичных родительским.

бета-катенин — *смотри* β -катенин

библиотека ДНК

Набор клонированных молекул ДНК, соответствующих либо целому геному (геномная библиотека), либо копиям ДНК, комплементарным синтезируемым клеткой мРНК (библиотека кДНК).

бивалент

Четырех-хроматидная структура, образующаяся во время мейоза и состоящая из спаренной со своим реплицированным гомологом удвоенной хромосомы.

биориентация

Прикрепление сестринских хроматид к противоположным полюсам митотического веретена деления, позволяющее им двигаться к разным концам клетки при расхождении в анафазе.

биосинтез — *смотри* анаболизм

биосфера

Совокупность всех живых организмов Земли.

биотин

Низкомолекулярное соединение, служащее коферментом. Также используется для ковалентного мечения белков, что позволяет регистрировать целевой белок с помощью авидина — белка, который хорошо связывается с биотином (рис. 2.63).

бластомер

Одна из многих клеток, образующихся при дроблении оплодотворенной яйцеклетки (рис. 22.69).

бластула

Ранняя стадия развития эмбриона животных, обычно представляющая собой шар эпителиальных клеток с заполненной жидкостью полостью внутри. Существует до начала гастрюляции.

блоттинг

Биохимический метод, в котором разделенные в геле макромолекулы переносятся на нейлоновую мембрану или нитроцеллюлозную бумагу. Это позволяет иммобилизовать молекулы для последующего анализа. [*Смотри* нозерн-, Саузерн- и вестерн-(иммуно-) блоттинг.] (рис. 8.38).

боковая цепь

Та часть молекулы аминокислоты, которая различна у разных аминокислот. Боковые цепи определяют уникальные физические и химические свойства каждой аминокислоты (приложение 3.1, стр. 194–195).

брожение

Анаэробный энерговыделяющий метаболический путь. Например, в анаэробном гликолизе пируват превращается в молочную кислоту или этанол с окислением NADH до NAD⁺ (рис. 2.71).

буфер

Раствор слабой кислоты или основания, рН которого не меняется при добавлении небольшого количества кислоты или основания или при разбавлении.

вакуоль

Крупная заполненная жидкостью везикула в большинстве клеток растений и грибов. Обычно занимает более трети объема клетки. (рис. 13.39)

валентность

Число электронов, которое должен приобрести или потерять атом (за счет деления электронной пары или переноса) для заполнения его внешней электронной оболочки. Валентность атома равна числу одинарных связей, которые может образовать атом.

ван-дер-ваальсово взаимодействие

Тип нековалентных взаимодействий, возникающих между расположенными на близком расстоянии неполярными атомами. Само по себе это довольно слабое взаимодействие (табл. 2.1, стр. 82 и приложение 2.3, стр. 176–177).

вариабельный участок

Участок легкой или тяжелой цепи иммуноглобулина, различающийся у разных молекул и формирующий сайт связывания антигена (рис. 25.30 и 25.31).

вегетативный полюс

Часть яйцеклетки животного, в которой расположена основная масса желтка. Располагается с противоположной стороны от анимального полюса (рис. 22.68).

ведущая цепь (опережающая цепь, лидирующая цепь)

Одна из двух новосинтезированных цепей ДНК в репликационной вилке. Ведущая цепь синтезируется непрерывно в направлении от 5'-конца к 3'-концу (рис. 5.7).

везикула (пузырек)

Маленькая окруженная мембраной органелла цитоплазмы эукариотической клетки; часто сферическая (рис. 11.35).

везикулярный транспорт

Транспорт белков из одного клеточного компартмента в другой посредством окруженных мембраной интермедиатов, например, везикул или фрагментов органелл.

вектор

В клеточной биологии ДНК агента (вируса или плазмиды), используемая для переноса генетической информации в клетку или организм. *Смотри также* вектор клонирования, вектор экспрессии (рис. 8.39).

вектор клонирования

Небольшая молекула ДНК, обычно выделенная из бактериофага или плазмиды. Используется для переноса участка ДНК и клонирования его в клетке-реципиенте; позволяет реплицировать фрагмент ДНК (рис. 8.39).

вектор экспрессии

Вирус или плазида, переносящая последовательность ДНК в подходящую клетку-хозяина и направляющая там синтез кодируемых последовательностью белков (рис. 8.48)

вестерн-блоттинг (иммуноблоттинг)

Метод, в котором разделенные электрофорезом и иммобилизованные на нитроцеллюлозной или нейлоновой мембране белки анализируются посредством меченых антител.

вирион

Вирусная частица (рис. 24.13).

вирус

Частица, представляющая собой нуклеиновую кислоту (РНК или ДНК), окруженную белковой оболочкой. Вирус способен реплицироваться внутри клетки-хозяина и перемещаться из клетки в клетку (рис. 24.13).

вирусная оболочка

Фосфолипидный бислой, образующийся из плазматической мембраны клетки-хозяина и окружающий оболочечный вирус. Внутри располагается нуклеокапсид. (рис. 24.15)

ВИЧ (HIV)

Вирус иммунодефицита человека. Ретровирус, вызывающий СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита) (рис. 13.19 и 24.16).

внеклеточная сигнальная молекула

Любой секретируемый или расположенный на поверхности клетки химический сигнал, связывающийся с рецепторами и регулирующий активность клетки, экспрессирующей рецептор.

внеклеточный матрикс

Секретируемая клетками сложная сеть полисахаридов (например, гликозаминогликанов или целлюлозы) и белков (например, коллагена), с которой связаны клетки.

внутренняя клеточная масса

В раннем зародыше млекопитающих скопление недифференцированных клеток, из которых разовьется взрослый организм (рис. 22.88).

внутриклеточный сигнальный белок

Белок, участвующий во внутриклеточном сигнальном пути. Обычно активирует следующий белок пути или участвует в образовании малого внутриклеточного медиатора (рис. 15.1).

водородная связь

Нековалентная связь, в которой два электроотрицательных атома связаны через атом водорода (приложение 2.3, стр. 176–177).

водоросли

Неформальный термин, описывающий разнообразные простые одноклеточные и многоклеточные эукариотические фотосинтетические организмы. К водорослям относятся, например, *Nitella*, *Volvox* и *Fucus*.

волосковая клетка — *смотри* слуховые волосковые клетки**воспалительный ответ**

Локальный ответ ткани на повреждение или инфекцию, характеризующийся покраснением, отеком, повышением температуры и болью. Вызывается проникновением в ткань белых клеток крови, высвобождающих различные локальные медиаторы, например, гистамин.

восстановление

Присоединение электронов к атому, происходящее, например, при присоединении водорода к биологической молекуле или удаления с нее кислорода. Процесс, противоположный окислению (рис. 2.43).

восстановление флуоресценции после фотоотбеливания (ВФПФ, FRAP)

Метод наблюдения за кинетическими параметрами белков путем анализа движения флуоресцентных белковых молекул в область клетки, которая была отбелена пучком лазера.

врожденный иммунный ответ

Иммунный ответ (как растений, так и животных) на патоген, осуществляемый предсуществующей защитой организма (врожденной иммунной системой), за счет молекулярных механизмов, закодированных в генах зародышевой линии. В отличие от адаптивного ответа, развивается немедленно, не обладает антигенной специфичностью и не имеет иммунологической памяти (т.е. не изменяет интенсивности при повторной встрече с тем же патогеном).

вставочная регенерация (интеркалярная регенерация)

Тип регенерации, при котором между двумя пересажеными рядом неодинаковыми частями структуры формируется отсутствующая ткань (рис. 22.56).

вторичная клеточная стенка

Постоянная жесткая клеточная стенка, образующаяся под первичной клеточной стенкой в некоторых завершивших свой рост растительных клетках (рис. 19.77, в).

вторичная структура

Регулярная локальная структура полимерной молекулы; в белках это α -спирали и β -листы.

вторичный иммунный ответ

Приобретенный иммунный ответ на антиген, возникающий во время повторной встречи с данным антигеном. Быстрее развивается и сильнее, чем первичный иммунный ответ. (рис. 25.10)

вторичный посредник (вторичный мессенджер, малый внутриклеточный медиатор)

Малая внутриклеточная сигнальная молекула, образующаяся или высвобождающаяся в ответ на внеклеточный сигнал. Способствует передаче сигнала в клетке.

К вторичным посредникам относятся, например, циклический АМР, циклический GMP, IP_3 , Ca^{2+} и диацилглицерин (рис. 15.17).

ВФПФ — *смотри* восстановление флуоресценции после фотоотбеливания
вырожденный

Прилагательное, описывающее множественные состояния, эквивалентные друг другу: например, различные сочетания трех нуклеотидов (кодоны), кодирующих одну и ту же аминокислоту.

высокоэнергетическая связь (макроэргическая связь)

Ковалентная связь, гидролиз которой высвобождает большое количество свободной энергии в клетке. Химическая группа, присоединенная к молекуле через такую связь, легко переносится с одной молекулы на другую. К таким связям относятся фосфодиэфирная связь в АТР и сложноэфирная связь в **ацетил-КоА**.

высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖК)

Разновидность хроматографии, в которой используются колонки, заполненные очень маленькими гранулами сорбента; разделяемая смесь пропускается через колонку под очень высоким давлением.

ГАГ — *смотри* гликозаминогликан

гамета

Специализированная гаплоидная клетка (яйцеклетка или сперматозоид), образующаяся из примордиальных зародышевых клеток в результате мейоза и выполняющая функцию полового размножения. *Смотри также* клетки зародышевой линии.

ганглий

Скопление тел нервных клеток и ассоциированных с ними глиальных клеток, расположенное вне центральной нервной системы.

ганглиозид

Любой гликолипид, несущий один или несколько остатков сиаловой кислоты. Располагается в плазматической мембране эукариотических клеток; особенно часто встречается в нервных клетках (рис. 10.18).

гаплоидный

Несущий единственную копию генома (один набор хромосом), как, например, сперматозоид, неоплодотворенная яйцеклетка или бактерия. *Сравни* диплоидный.

гаплотип

Совокупность аллелей и ДНК-маркеров в определенном локусе одной гомологичной хромосомы, отличающие его от такого же локуса на другой гомологичной хромосоме.

гаплотипный блок

Набор аллелей и ДНК-маркеров, наследуемых в крупном кластере на одной хромосоме гомологичной пары без генетической рекомбинации в течение многих поколений.

гаструляция

Стадия развития животных, во время которой бластула превращается в структуру, обладающую кишкой (гаструлу) (рис. 22.3).

гем

Циклическая органическая молекула, содержащая атом железа, переносящий кислород в гемоглобине и электрон в цитохромах (рис. 14.22).

геминин

Белок, не позволяющий новым пререпликативным комплексам образовываться в S-фазе и митозе и обеспечивающий, таким образом, однократное удвоение ДНК в каждом клеточном цикле.

ген

Участок ДНК, транскрибируемый как отдельная единица и несущий информацию об определенном наследственном признаке, обычно относящемся к (1) единственному белку (или набору родственных белков, образующихся в результате посттранскрипционного процессинга) или (2) единственной РНК (или набору родственных РНК).

ген *Cdc* (ген цикла клеточного деления)

Ген, продукт которого (белок Cdc) контролирует определенный этап или несколько этапов эукариотического клеточного цикла. Впервые был идентифицирован у дрожжей.

ген pair-rule

В развитии дрозофилы ген, экспрессируемый в нескольких поперечных полосах вдоль зародыша и способствующий его разделению на сегменты (рис. 22.37).

ген вирулентности

Ген, определяющий способность микроорганизма (патогена) вызывать болезнь.

ген домашнего хозяйства (облигатный ген, конститутивный ген)

Ген, выполняющий функцию, необходимую всем типам клеток организма, вне зависимости от их специализации.

ген материнского эффекта

Ген, мРНК-продукт которого накапливается в яйцеклетке и обеспечивает трансляцию белков, необходимых ранних стадий развития оплодотворенного яйца. Мутации с материнским эффектом влияют на развитие зародышей, даже если сам зародыш не унаследовал мутантный ген.

ген полярности сегментов (ген сегментарной полярности)

В развитии дрозофилы ген, участвующий в формировании переднезадней организации каждого сегмента тела (рис. 22.37 и 22.41).

ген рРНК

Ген, кодирующий рибосомную РНК (рРНК).

ген сегментарной полярности — *смотри* ген полярности сегментов

ген цикла клеточного деления — *смотри* ген *Cdc*

генетика

Наука, которая занимается изучением генов как элементарных носителей генетической информации, в соответствии с принципами наследственности и изменчивости.

генетическая избыточность

Наличие двух и более сходных генов с перекрывающимися функциями.

генетическая инженерия (методы рекомбинантных ДНК)

Набор методов, с помощью которых фрагменты ДНК из разных источников объединяются для получения новой ДНК, часто называемой рекомбинантной ДНК. Рекомбинантные ДНК широко используются для клонирования генов, генной модификации организмов и в молекулярной биологии в целом.

генетическая нестабильность

Патологически увеличенная частота спонтанных мутаций, наблюдаемая, например, в раковых клетках.

генетическая рекомбинация — смотри рекомбинация**генетический код**

Набор правил, определяющих соответствие между нуклеотидными триплетами (кодонами) в ДНК или РНК и аминокислотами в белках (рис. 6.50).

генетический мозаицизм — смотри мозаицизм**генетический скрининг**

Метод обнаружения генов, влияющих на определенный аспект фенотипа, путем исследования большого числа мутантных особей.

геном

Совокупность генетической информации клетки или организма; в частности, ДНК, несущая эту информацию.

геномика

Изучение последовательностей ДНК и свойств целых геномов.

геномная ДНК

ДНК, составляющая геном клетки или организма. Термин часто используется в противовес кДНК (ДНК, синтезируемой путем обратной транскрипции с мРНК). Клоны геномной ДНК представляют собой ДНК, напрямую клонированную с хромосомной ДНК, и совокупность таких клонов одного генома называется библиотекой геномной ДНК.

геномный импринтинг

Явление, при котором ген либо экспрессируется, либо не экспрессируется в потомстве в зависимости от того, от кого из родителей он был унаследован. (рис. 7.82)

генотип

Генетический состав отдельной клетки или организма. Определенное сочетание аллелей, присущее данной особи (приложение 8.1, стр. 852–853).

ген-супрессор опухоли (опухолевый супрессор)

Ген, препятствующий возникновению опухолей. Мутации таких генов с потерей функции благоприятствуют развитию рака (рис. 20.27).

гепатоцит

Основной тип клеток печени.

гетерогенный ядерный рибонуклеопротеид — смотри белок hnРНП

гетеродимер

Белковый комплекс, состоящий из двух различных полипептидных цепей.

гетерозигота

Диплоидная клетка или особь, несущая два различных аллеля одного или нескольких определенных генов.

гетерокарион

Клетка, несущая два и более генетически различных ядра; образуется в результате слияния двух и более клеток.

гетерофильное связывание

Связывание молекул разного типа, особенно в случае межклеточной адгезии (рис. 19.8).

гетерохроматин

Область хромосомы, где хроматин находится в высококонденсированном состоянии; обычно транскрипционно неактивна. *Сравни* эухроматин.

гиалуроновая кислота (гиалуронан)

Тип несulfатированного гликозаминогликана с повторяющейся последовательностью (до 25 тысяч) идентичных дисахаридных единиц, не связанных с кор-белком. Входит в состав синовиальной жидкости, обуславливая ее вязкость, а также суставного хряща — влияя на его упругость, и многих других тканей (рис. 19.56 и 19.57).

гибридизация

В молекулярной биологии процесс, в котором две комплементарные нуклеиновые кислоты образуют спаренный по основаниям дуплекс ДНК-ДНК, ДНК-РНК, или РНК-РНК. Лежит в основе эффективного метода обнаружения специфических нуклеотидных последовательностей (рис. 5.54 и 8.36).

гибридизация *in situ*

Метод, в котором одноцепочечный образец РНК или ДНК используется для локализации путем гибридизации гена или молекулы мРНК в клетке или ткани.

гибридизация нуклеиновых кислот — *смотри* гибридизация**гибридизация с переносом из геля — *смотри* блоттинг****гибридома**

Клеточная линия, используемая для получения моноклональных антител. Ее получают путем слияния секретирующих антитело В-клеток с клетками опухоли В-лимфоцитов (рис. 8.8).

гига-

Приставка, обозначающая один миллиард (10^9).

гидрид-ион (H⁻)

Протон (H⁺) плюс два электрона ($2e^-$). Эквивалентен атому водорода с одним дополнительным электроном.

гидроксильная группа (-OH)

Химическая группа, состоящая из атома водорода и кислорода, как в спирте (приложение 2.1, стр. 172-173).

гидролаза

Общее название ферментов, катализирующих реакцию гидролитического расщепления. К гидролазам относятся нуклеазы и протеазы.

гидролиз (прилагательное гидролитический)

Расщепление ковалентной связи с одновременным присоединением воды. Общая схема: $AB + H_2O \rightarrow AOH + BH$.

гидрофильный

Хорошо растворимый в воде. Буквально: «любящий воду».

гидрофобные силы

Притяжение между неполярными молекулами, фактически обусловленное выталкиванием их из воды. Стянутая водородными связями сеть молекул воды отталкивает неполярные поверхности — чтобы минимизировать их влияние на сеть. В результате, неполярные поверхности сближаются, выталкивая расположенную между ними воду (приложение 2.3, стр. 176–177).

гидрофобный (липофильный)

Плохо растворимый в воде. Буквально: «боящийся воды».

гипервариабельный участок

Один из трех небольших участков в вариабельном домене одной из цепей иммуноглобулина или Т-клеточного рецептора, показывающий наибольшую вариабельность последовательности аминокислот. Гипервариабельные участки определяют специфичность антигенсвязывающего сайта (рис. 25.31).

гипертонический раствор

Содержит высокие концентрации растворенных веществ, что приводит к выведению воды из клеток за счет осмоса.

гипотонический

Содержит низкие концентрации растворенных веществ, что обуславливает поступление воды в клетку за счет осмоса.

гистон

Одна из групп небольших белков, обогащенных аргинином и лизином. В эукариотической хромосоме гистоны образуют нуклеосомный стержень, который обвивает ДНК (рис. 4.25).

гистон H1

«Линкерный» (в противовес «стержневому») гистон, который связывает ДНК на выходе из нуклеосомы. Способствует упаковке нуклеосом в хроматиновые фибрилы диаметром 30 нм (рис. 4.44).

гистоновый код

Комбинации химических модификаций гистонов (например, ацетилирование, метилирование), определяющие, по-видимому, как и когда можно взаимодействовать (для репликации или транскрипции) с упакованной в нуклеосомы ДНК (рис. 4.44).

гистоновый шаперон (фактор сборки хроматина)

Белок, связывающий свободные гистоны и высвобождающий их после их встраивания в реплицированный хроматин (рис. 4.30).

главный комплекс гистосовместимости — *смотри* комплекс МНС

гладкий эндоплазматический ретикулум (гладкий ЭР)

Область эндоплазматического ретикулума, не несущая рибосом. Участвует в синтезе липидов (рис. 12.36).

гладкомышечная клетка — *смотри* мышечная клетка

глиальная клетка

Вспомогательная, не являющаяся нейральной, клетка нервной системы. К глиальным клеткам относятся олигодендроциты и астроциты центральной нервной системы позвоночных и шванновские клетки периферической нервной системы.

гликоген

Полисахарид, построенный исключительно из мономеров глюкозы. В животных клетках используется для запасаания энергии. В мышечных клетках и клетках печени особенно много крупных гранул гликогена (рис. 2.75 и приложение 2.4, стр. 178–179).

гликозаминогликан (ГАГ, GAG)

Длинный, линейный, заряженный полисахарид, состоящий из повторяющихся пар сахаров, один из которых всегда аминсахар. Обычно ковалентно связан с корбелком протеогликанов внеклеточного матрикса. К GAG относятся хондроитин сульфат, гиалуроновая кислота и гепарин (рис. 19.55).

гликозидная связь

Химическая связь, образующаяся в результате реакции конденсации между гидроксильной группой углеродного атома сахара, несущего альдегид или кетон, и другой молекулой — зачастую, другим сахаром. Гликозидные связи встречаются во многих структурах, включая полисахариды, нуклеиновые кислоты и гликопротеины. *Смотри* O-связанные и N-связанные олигосахариды (приложение 2.4, стр. 178–179).

гликозилаза — *смотри* ДНК-гликозилаза

гликозилирование

Присоединение одного или нескольких сахаров к молекуле белка или липида.

гликозилфосфатидилинозитольный якорь — *смотри* GPI-якорь

гликолиз

Повсеместно встречающийся, протекающий в цитозоле метаболический путь, в котором сахара частично расщепляются с образованием АТФ. Буквально: «расщепление сахара» (рис. 2.70 и приложение 2.8, стр. 186–187).

гликолипид

Липидная молекула, связанная с остатком сахара или олигосахариды (приложение 2.5, стр. 180–181).

гликопротеин

Белок, несущий одну или несколько олигосахаридных цепей, ковалентно связанных с боковыми цепями аминокислот. Большинство секретлируемых белков и белков, расположенных на внешней поверхности плазматической мембраны, представляют собой гликопротеины.

глицерин

Небольшая органическая молекула, — простейший трехатомный спирт. Глицерин служит исходным веществом для синтеза многих молекул клетки, в том числе фосфолипидов (приложение 2.5, стр. 180—181).

глюкагон

Гормон, синтезируемый поджелудочной железой. Стимулирует клетки печени преобразовывать запасенный гликоген в глюкозу, что приводит к увеличению уровня сахара в крови. Инсулин обладает противоположным эффектом.

глюкоза

Шестиуглеродный моносахарид, играющий важную роль в клеточном метаболизме. В животных клетках запасается в полимерной форме как гликоген, в растительных — как крахмал.

гомеодомен

ДНК-связывающий домен, свойственный классу белков-регуляторов генов, играющих важную роль в развитии животных (рис. 3.13 и 7.13).

гомеозисная мутация

Мутация, заставляющая клетки в одной части тела вести себя так, будто они расположены в другой, что приводит к невероятным нарушениям в строении тела (рис. 22.42 и 22.127).

гомеозисный селекторный ген

В процессе развития дрозофилы ген, определяющий и поддерживающий различия между сегментами тела.

гомозигота

Диплоидная клетка или организм, несущие два идентичных аллеля определенного гена или набора генов.

гомолог

Ген, последовательность которого похожа на последовательность других генов, что является следствием происхождения от одного предкового гена. Термин включает в себя как ортологи, так и паралоги (рис. 1.25). *Смотри* гомологичные хромосомы.

гомологичная рекомбинация (общая рекомбинация)

Генетический обмен между парами идентичных или очень похожих последовательностей ДНК, обычно расположенных на двух копиях одной хромосомы (рис. 5.51, 5.53, 5.59 и 5.64).

гомологичные хромосомы (гомологи)

Материнская и отцовская копии одной хромосомы в диплоидной клетке.

гомологичный

Гены, белки или структуры организма, обладающие сходством в результате происхождения от общего предка.

гомофильное связывание

Связывание между молекулами одного типа, особенно в случае межклеточной адгезии (рис. 19.8).

гормон

Сигнальная молекула, секретируемая эндокринной клеткой в кровяное русло. Может переноситься к отдаленным клеткам-мишеням.

грana

В хлоропластах стопка мембранных дисков (тилакоидов), содержащих хлорофилл и являющихся местом протекания светопоглощающих реакций фотосинтеза (рис. 14.35 и 14.36).

гранулоцит

Тип белых клеток крови, несущий хорошо различимые цитоплазматические гранулы. К гранулоцитам относятся нейтрофилы, базофилы и эозинофилы (рис. 23.37).

грибы

Царство эукариотических организмов, включающее в себя дрожжи, плесневые и шляпочные грибы. Многие болезни растений и относительно небольшое число болезней животных вызываются грибами.

гуанозинтрифосфат — смотри GTP**ДАГ — смотри диацилглицерин****дальтон (Da или Да)**

Единица измерения молекулярной массы. Примерно равна массе атома водорода (1.66×10^{-24} г).

двойная гибридная (дигибридная) система — смотри дрожжевая двойная гибридная система**двойная спираль**

Трехмерная структура ДНК, в которой две антипараллельные цепи ДНК, удерживаемые вместе водородными связями между основаниями, закручены в спираль (рис. 4.5).

двунитевая ДНК

Двухцепочечная ДНК.

дегидрогеназа

Фермент, отщепляющий от молекулы субстрата гидрид-ион (H⁻).

дезоксирибоза

Пятиуглеродный моносахарид, входящий в состав ДНК. Отличается от рибозы тем, что углеродный атом C₂ связан с H, а не с OH. C₅H₁₀O₄. Сравни рибоза.

дезоксирибонуклеиновая кислота — смотри ДНК**делящиеся дрожжи**

Тривиальное название *Schizosaccharomyces pombe*. Делятся с образованием двух равных по размеру клеток.

денатурация

Значительное изменение конформации белка или нуклеиновой кислоты под действием высокой температуры или химических веществ. Обычно приводит к потере биологической функции.

дендрит

Обычно сильно разветвленный отросток нервной клетки, получающий стимулы от других нервных клеток.

дендритная клетка

Морфологическое понятие, объединяющие несколько типов антиген-презентирующих клеток с многочисленными ветвящимися выростами цитоплазмы. Дендритные клетки захватывают антиген и процессируют его для представления Т-клеткам. Термин введен в 1973 г. Нобелевским лауреатом Р. Штайнманом.

деполяризация

Изменение мембранного потенциала внутри клетки в сторону менее отрицательного значения.

дерма

В коже: толстый слой соединительной ткани, лежащий под эпидермисом. Обогащен коллагеном.

десенсибилизация — смотри адаптация**десмосома**

Прикрепляющее межклеточное соединение, обычно образующееся между двумя эпителиальными клетками. Характеризуется плотными белковыми структурами дисковидной формы, в которые встраиваются промежуточные филаменты двух соседних клеток (рис. 19.3).

детерминация

В эмбриональной биологии клетка называется детерминированной, если она должна пойти по определенному пути развития. Детерминация отражает изменение внутренних свойств клетки и предвосхищает более явный процесс клеточной дифференцировки.

джоуль (Дж)

Стандартная единица измерения энергии в системе МКС (метр-килограмм-секунда). Один джоуль — это энергия, выделяемая источником энергии мощностью 1 ватт за 1 секунду. Примерно равен 0.24 калории.

диацилглицерин (ДАГ, DAG)

Липид, образующийся в результате расщепления инозитолфосфолипидов в ответ на внеклеточные сигналы. Состоит из двух цепей жирных кислот, ковалентно связанных с глицерином. Это малая сигнальная молекула, способствующая активации протеинкиназы С (PKC) (рис. 15.38).

дидезокси-метод

Стандартный ферментативный метод секвенирования ДНК (рис. 8.50).

дикий тип

Нормальная, немутированная форма организма; форма, встречающаяся в дикой природе.

динамин

Цитоплазматическая GTPаза, связывающаяся с перешейком клатринового пузырька в процессе его отшнуровывания от мембраны. Необходим для завершения формирования пузырька.

динамическая нестабильность

Быстрый переход белкового филамента, например, микротрубочки или актинового филамента, от удлинения к укорочению, и наоборот (приложение 16.2, стр. 1496–1497).

динеин

Крупный моторный белок, совершающий АТФ-зависимое движение вдоль микротрубочек.

диплоидный

Содержащий двойной геном (два набора гомологичных хромосом и, следовательно, две копии каждого гена или генетического локуса). *Сравни гаплоидный.*

дисульфидная связь (-S-S-)

Ковалентная связь, формирующаяся между двумя сульфгидрильными группами цистеинов. В случае внеклеточных белков часто служит для связывания двух белков или частей одного белка. Образуется в эндоплазматическом ретикулуме эукариотических клеток (приложение 2.1, стр. 172–173, и рис. 3.28).

дифференциальный интерференционный контрастный микроскоп

Тип светового микроскопа, в котором используются интерференционные эффекты, связанные с прохождением света через области клетки с разными показателями преломления. Применяется для визуализации неокрашенных живых клеток.

дифференцировка

Процесс, в результате которого клетка становится специализированной.

диффузия

Распространение вещества в какой-либо среде в направлении убывания его концентрации, что обусловлено тепловым движением ионов, атомов, молекул, а также более крупных частиц.

ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота)

Полинуклеотид, состоящий из ковалентно связанных мономеров дезоксирибонуклеотидов. Хранит и передает от поколения к поколению наследственную информацию клетки (рис. 4.3 и приложение 2.6, стр. 182–183).

ДНК-аффинная хроматография

Метод очистки ДНК-связывающих белков, специфичных к определенной нуклеотидной последовательности. В методе белки связываются с матрицей, к которой ковалентно пришиты соответствующие фрагменты ДНК (рис. 7.28).

ДНК-лигаза

Фермент, ковалентно сшивающий концы двух цепей ДНК с образованием единой непрерывной цепи.

ДНК-полимераза

Фермент, синтезирующий ДНК путем соединения нуклеотидов в соответствии с матричной цепью ДНК.

ДНК-праймаза

Фермент, синтезирующий на матричной цепи ДНК короткую последовательность РНК, служащую затравкой (праймером) для синтеза ДНК (рис. 5.11).

ДНК-содержащий онкогенный вирус

Общее название разнообразных ДНК-содержащих вирусов, способных вызывать рост опухолей (рис. 20.43).

ДНК-транспозон

Мобильный элемент, который на протяжении всего жизненного цикла существует как последовательность ДНК. Многие ДНК-транспозоны перемещаются по механизму вырезания и вставки. *Смотри также* транспозон.

ДНК-хеликаза

Фермент, перед началом репликации участвующий в распутывании двойной спирали ДНК для того, чтобы стали доступны отдельные цепи.

ДНК-чип

Большой набор коротких молекул ДНК (последовательности которых известны), связанных со стеклянным предметным стеклом микроскопа или другой подходящей подложкой. Используется для одновременного наблюдения за экспрессией тысяч генов: выделенные из анализируемых клеток мРНК переводят в кДНК, которые, в свою очередь, гибридизуют с чипом (рис. 8.73).

доброкачественная опухоль

Обладающая самоограничением по росту и неинвазивная.

долговременная потенция

Долговременное (от нескольких дней до нескольких недель) увеличение чувствительности определенных синапсов мозга, вызванное тем, что пресинаптические нейроны короткое время непрерывно посылают сигналы (рис. 11.42).

домен (белковый домен)

Часть белка, обладающая собственной третичной структурой. Крупные белки обычно состоят из нескольких доменов, соединенных гибкими участками полипептидной цепи. Во многих белках можно обнаружить гомологичные домены.

доминантный аллель

В генетике один из пары аллелей, проявляющийся в фенотипе организма. Второй аллель в таком случае не проявляется, хотя тоже присутствует. Противоположность рецессивному аллелю (приложение 8.1, стр. 852–853).

доминантно-негативная мутация

Мутация, которая проявляется как доминантная, но блокирует активность гена, вызывая фенотип с потерей функции даже в присутствии нормальной копии гена (приложение 8.1, стр. 852–853).

дробление

(1) Физическое деление клетки надвое. (2) Специализированный тип клеточного деления, наблюдаемый во многих ранних эмбрионах, когда крупная клетка делится на множество маленьких без промежуточного роста.

дрожжевая двойная гибридная система

Молекулярно-генетический метод идентификации белок-белковых и ДНК-белковых взаимодействий (рис. 8.24).

дрожжи

Общее название нескольких семейств одноклеточных грибов. Включают в себя

виды, используемые в пивоварении и хлебопечении, а также патогенные виды. Одни из самых просто устроенных эукариот.

дрозофила — *смотри Drosophila melanogaster*

ДСН-ПААГ (SDS-PAGE, электрофорез в полиакриламидном геле в присутствии додецилсульфата натрия)

Тип электрофореза, используемый для разделения белков по размеру. Смесь белков сначала обрабатывают отрицательно заряженным детергентом (SDS) и восстанавливающим агентом (β -меркаптоэтанолом), а затем пропускают через полиакриламидный гель. Детергент и восстанавливающий агент разворачивают белки, освобождают их от взаимодействий с другими молекулами и разделяют полипептидные субъединицы. *Смотри также* электрофорез.

дыхание

Общее название энергообразующего процесса в клетках, в ходе которого происходит разрушение сахаров или других органических молекул. Процесс дыхания сопровождается поглощением O_2 и приводит к образованию побочных продуктов: CO_2 и H_2O (рис. 2.41).

дыхательная цепь — *смотри* электрон-транспортная цепь

естественный киллер (натуральный киллер, НК-клетка)

Цитотоксическая клетка врожденной иммунной системы, способная убивать зараженные вирусами и некоторые опухолевые клетки (рис. 24.57).

жгутик

Длинный вырост клетки, волнообразное движение которого обеспечивает перемещение клетки в жидкости. Жгутики эукариот представляют собой удлинённые реснички. Жгутики бактерий короче, иначе устроены и иначе работают. *Сравни* ресничка.

железо-серный кластер

Переносящая электрон группа, состоящая из двух или четырех атомов железа, связанных с таким же числом атомов серы. Характерен для одного из классов белков-переносчиков электронов (рис. 14.23).

желток

Запас питательных веществ в яйцеклетках многих млекопитающих. В состав желтка входят липиды, белки и полисахариды.

жир

Липид, служащий энергетическим запасом клетки. Состоит из триглицеридов — жирных кислот, связанных эфирной связью с глицерином.

жирная кислота

Карбоновая кислота с длинным углеводородным хвостом. Важный источник энергии в процессе метаболизма и исходное вещество для синтеза фосфолипидов (приложение 2.5, стр. 180–181).

запирающее соединение

Клеточные соединения, «запечатывающие» клетки в эпителии с образованием барьера, через который не могут пройти даже малые молекулы. Превращают слой клеток в непроницаемый (или селективно проницаемый) барьер (рис. 19.2 и табл. 19.1, стр. 1741).

запрограммированная клеточная смерть (программированная клеточная смерть, ПКС)

Форма клеточной смерти, при которой клетка убивает себя путем активации внутриклеточной программы смерти.

зародышевая линия

Линия клеток, состоящая из гаплоидных гамет и их диплоидных клеток-предшественников.

зародышевый листок

Основной слой ткани зародыша животного. Всего выделяют три зародышевых листка: энтодерму, мезодерму и эктодерму (рис. 22.70).

затравка — смотри праймер**зеленый флуоресцентный белок (GFP)**

Флуоресцентный белок, изолированный из медузы. Широко используется в клеточной биологии в качестве маркера.

зигота

Диплоидная клетка, формирующаяся в результате слияния мужской и женской гамет. Оплодотворенная яйцеклетка.

злокачественная опухоль

Опухоль, клетки которой способны к инвазии и метастазированию (рис. 20.3).

зонд

Радиоактивно или химически меченый фрагмент РНК или ДНК, используемый для локализации посредством гибридизации определенных последовательностей нуклеиновых кислот.

изменение свободной энергии (ΔG)

Изменение свободной энергии в ходе реакции: свободная энергия продуктов минус свободная энергия исходных веществ. Большое отрицательное значение ΔG указывает на то, что протекание реакции энергетически выгодно (приложение 2.7, стр. 184–185).

изменение стандартной свободной энергии (ΔG°)

Изменение свободной энергии двух взаимодействующих молекул при стандартных температуре и давлении, когда все реагенты присутствуют в концентрации 1 моль на литр (табл. 2.4, стр. 122, и рис. 14.18).

изомераза

Фермент, катализирующий перестройку связей внутри молекулы. *Смотри также* топоизомераза.

изомеры

Молекулы, состоящие из одних и тех же атомов, но обладающие разной структурой (приложение 2.4, стр. 178–179).

изопреноид (полиизопреноид)

Липидная молекула, углеродный скелет которой состоит из нескольких пятиуглеродных изопреновых звеньев. К изопреноидам относятся ретиноевая кислота и долихол (приложение 2.5, стр. 180–181).

изотопы

Атомы одного и того же элемента, отличающиеся атомной массой (числом нейтронов), но несущие одно и то же число протонов и электронов, т. е. обладающие одинаковыми химическими свойствами. Изотопы могут быть стабильными или радиоактивными.

изоформа

Одна из возможных форм белка. Изоформы являются результатом альтернативного сплайсинга общего транскрипта или представляют собой продукты различных, но близкородственных (гомологичных) генов.

изоэлектрическая точка (pI)

Значение рН, при котором молекула в растворе обладает нулевым суммарным зарядом и, следовательно, неподвижна в электрическом поле (рис. 8.22).

имагинальный диск

Группа, на первый взгляд, недифференцированных клеток в зародыше дрозофилы, которая даст начало взрослой структуре, например, глазу, лапке, крылу. Явная дифференцировка этих клеток происходит при метаморфозе (рис. 22.51).

иммортализация

Образование клеточной линии, способной делиться неограниченное число раз. Может произойти в результате мутации, вирусной трансформации или слияния исходных клеток с клетками опухолевой линии.

иммунная система

Система лимфоцитов и других клеток организма, обеспечивающая защиту от инфекции. У позвоночных два типа иммунной системы: врожденная и приобретенная.

иммунный ответ

Ответ иммунной системы на проникновение в организм чужеродного вещества или микроорганизма; термин обычно используется для приобретенного иммунного ответа. *Смотри также* врожденный, приобретенный, первичный и вторичный иммунные ответы.

иммуноблоттинг — *смотри* блоттинг**иммуноглобулин (Ig)**

Молекула антитела. У высших позвоночных известно пять классов иммуноглобулинов: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, каждый из которых играет определенную роль в приобретенном иммунном ответе.

иммуноглобулиновый домен (Ig-домен)

Характерный белковый домен длиной около 100 аминокислотных остатков, встречающийся в тяжелых и легких цепях иммуноглобулинов. Сходные домены, называемые иммуноглобулин-подобными (Ig-подобными), свойственны другим белкам, участвующим в межклеточных взаимодействиях и распознавании антигенов. Наличие этих доменов определяет принадлежность к суперсемейству иммуноглобулинов (рис. 25.32).

иммунологическая память

Долговременное свойство приобретенной иммунной системы, являющееся ре-

зультатом первичного иммунного ответа на многие антигены. Заключается в том, что следующая встреча с тем же антигеном вызовет более быстрый и сильный вторичный иммунный ответ (рис. 25.10).

иммунопреципитация (иммунная преципитация)

Использование специфического антитела для выделения соответствующего белка из раствора. Метод позволяет идентифицировать комплексы взаимодействующих белков в клеточных экстрактах путем использования антитела, специфичного к одному из белков, для преципитации комплекса. *Смотри также* преципитация хроматина и коиммунопреципитация.

иммунопреципитация хроматина (ChIP)

Метод, при помощи которого можно изолировать и идентифицировать связанную с определенным белком ДНК. Преципитацию проводят антителами против связанного с ДНК белка (рис. 7.32).

импринтинг — *смотри* геномный импринтинг

инактивация X-хромосомы

Инактивация одной копии X-хромосомы в соматических клетках самок млекопитающих.

инверсия

Тип мутации, при котором участок хромосомы меняет свое направление (инвертируется) (приложение 8.1, стр. 852–853).

ингибиторный G-белок (G_i)

Тримерный G-белок, регулирующий ионные каналы и ингибирующий фермент аденилатциклазу в плазматической мембране. *Смотри также* G-белок (табл. 15.3, стр. 1412).

индукция (индукционное взаимодействие)

В биологии развития изменение направления развития ткани в результате ее взаимодействия с другой тканью. Это явление называется индукционным взаимодействием (рис. 22.10 и 22.16).

индуцируемый промотор

Регуляторная последовательность ДНК, благодаря которой экспрессия связанного с ней гена может быть запущена определенным молекулярным или физическим стимулом (например, тепловым шоком) (рис. 22.49).

инозитол

Кольцевая молекула сахара, входящая в состав инозитолфосфолипидов.

инозитол-1,4,5-трисфосфат (IP_3)

Малая внутриклеточная сигнальная молекула, образующаяся в результате активации инозитолфосфолипидного сигнального пути. Вызывает высвобождение Ca^{2+} из эндоплазматического ретикулума (рис. 15.38 и 15.39).

инозитолфосфолипид (фосфоинозитид)

Липид, содержащий фосфорилированное производное инозитола. Входит в состав плазматической мембраны в небольшом количестве, но играет важную роль в разграничивании мембран и внутриклеточной передаче сигнала в эукариотических клетках (рис. 15.37).

инозитолфосфолипидный сигнальный путь

Внутриклеточный сигнальный путь, начинающийся с активации фосфолипазы С и образования IP_3 и диацилглицерина (ДАГ) из инозитолфосфолипидов плазматической мембраны. ДАГ способствует активации протеинкиназы С (рис. 15.38 и 15.39).

инсулин

Полипептидный гормон, секретируемый β -клетками поджелудочной железы и регулирующий метаболизм глюкозы животных (рис. 3.35).

инсуляторный элемент (инсулятор)

Последовательность ДНК, не позволяющая связанному с ДНК в регуляторной области белку-регулятору одного гена влиять на транскрипцию соседних генов (рис. 7.62).

интегральный мембранный белок

Белок, удерживаемый в мембране посредством одного или нескольких доменов, пронизывающих липидный бислой или погруженных в него (рис. 10.19).

интегрин

Трансмембранный белок адгезии, участвующий в прикреплении клеток к внеклеточному матриксу и друг к другу (рис. 19.4 и табл. 19.2, стр. 1744).

интеркалярная регенерация — смотри вставочная регенерация**интерлейкины (ИЛ)**

Общее название большой группы цитокинов, преимущественно регулирующих взаимодействия между различными лейкоцитами в процессах иммунного ответа и воспаления. Некоторые интерлейкины приведены в табл. 25.4, стр. 2456

интерфаза

Длительный период клеточного цикла между митозами. Включает в себя фазы G_1 , S и G_2 (рис. 17.4).

интерфероны (IFN)

Общее название представителей класса цитокинов. Интерфероны секретируются клетками, зараженными вирусом, и определенными типами активированных Т-клеток. Интерфероны запускают противовирусный ответ, ингибируя репликацию вирусов и стимулируя макрофаги и клетки-киллеры к уничтожению зараженных клеток (рис. 25.60).

интрон

Некодирующая область эукариотического гена, транскрибируемая в молекулу РНК, но впоследствии вырезаемая из нее путем сплайсинга в процессе образования мРНК или другой функциональной РНК (рис. 4.15).

инициаторная тРНК

Специальная тРНК, инициирующая трансляцию. Всегда несет аминокислоту метионин, т.е. образует комплекс Мет-тРНК (рис. 6.72).

ион

Атом, получивший или потерявший электрон(ы), в результате чего он приобретает соответственно отрицательный или положительный заряд; например, Na^+ и Cl^- .

ион водорода

Протон (H^+) в водном растворе. Составляет основу кислотности. Поскольку протон охотно присоединяется в молекуле воды с образованием H_3O^+ , правильнее его называть ионом гидроксония.

ион гидроксония (H_3O^+)

Протон, связанный с молекулой воды. В водных растворах протоны обычно существуют в этой форме.

ионная связь (ионное взаимодействие)

Связь между отрицательно заряженным и положительно заряженным ионами, возникающая в результате их электростатического притяжения. Один из типов нековалентных связей (рис. 2.5 и приложение 2.3, стр. 176-177).

ионный канал

Трансмембранный белковый комплекс, образующий в липидном бислое заполненный водой канал, через который неорганические ионы могут диффундировать против своего электрохимического градиента (рис. 11.21).

ионофор

Небольшая гидрофобная молекула, растворяющаяся в липидных бислоях и увеличивающая их проницаемость для определенных неорганических ионов.

кавеола

Инвагинация поверхности клетки, отпочковывающаяся внутрь с образованием пиноцитарного пузырька. Считается, что кавеолы образуются из липидных рафтов — областей мембраны, обогащенных определенными липидами.

кадгерин

Представитель крупного суперсемейства кадгеринов — трансмембранных белков адгезии. Опосредует гомофильную Ca^{2+} -зависимую межклеточную адгезию в животных тканях (рис. 19.4 и табл. 19.2, стр. 1744).

калория

Единица тепловой энергии, равная 4.2 джоуля. Одна калория (обозначается «кал») соответствует количеству теплоты, необходимому для повышения температуры 1 грамма воды на 1 °С. Килокалория (1000 калорий) используется для описания энергетической ценности пищевых продуктов.

кальмодулин

Распространенный внутриклеточный Ca^{2+} -связывающий белок, претерпевающий конформационные перестройки при связывании Ca^{2+} , что позволяет ему регулировать активность множества белков-мишеней. Активированная (связанная с Ca^{2+}) форма называется Ca^{2+} /кальмодулин (рис. 15.43).

кальциевый насос — смотри Ca^{2+} -насос**канал (мембранный канал)**

Трансмембранный белковый комплекс, позволяющий неорганическим ионам и другим малым молекулам пассивно диффундировать через липидный бислой. (рис. 11.3 и 11.4)

канал утечки K^+

K^+ -транспортирующий ионный канал в плазматической мембране животных клеток. Остается открытым даже в «покоящейся» клетке (приложение 11.3, стр. 1044).

канальный белок

Мембранный транспортный белок, формирующий в мембране водную пору, через которую может пройти определенное растворенное вещество, обычно ион. *Сравни с транспортером.*

канцероген

Любой агент, вызывающий рак, например, химическое вещество или форма излучения.

капсид

Белковая оболочка вируса, образующаяся в результате самосборки в регулярную пространственную структуру белковых субъединиц одного или нескольких типов. (рис. 3.30)

карбоксильная группа (-COOH)

Атом углерода, связанный с гидроксильной группой одинарной связью и с атомом кислорода двойной. Молекулы, несущие карбоксильную группу, являются слабыми кислотами – карбоновыми кислотами (приложение 2.1, стр. 172–173).

карбонильная группа (>C=O)

Атом углерода, связанный с кислородом двойной связью (приложение 2.1, стр. 172–173).

кариотип

Представление всех хромосом клетки в соответствии с их размером, формой и порядковым номером.

кариоферин — смотри рецептор ядерного транспорта**каркасный белок (скэффолд-белок)**

Белок, связывающий группы внутриклеточных сигнальных белков в единый сигнальный комплекс и часто закоривающий этот комплекс в определенной области клетки (рис. 15.17).

карта гаплотипов

Карта человеческого генома, основанная на гаплотипных блоках. Направлена на идентификацию и систематизацию генетической изменчивости людей.

карта рестрикции (рестрикционная карта)

Схематическое представление молекулы ДНК с указанием сайтов расщепления различными рестрикционными ферментами.

карцинома

Рак эпителиальных клеток. Самая распространенная форма рака человека.

каскад — смотри сигнальный каскад**каскад фосфорилирования**

Последовательные реакции фосфорилирования белков, опосредованные протеинкиназами, каждая из которых фосфорилирует и активирует следующую киназу цепи. Такие каскады часто встречаются во внутриклеточных сигнальных путях (рис. 15.60).

каспаза

Фермент клеток животных, относящийся к классу цистеиновых протеаз. Ка-

спазы — это аспартазы, высокоспецифичные к аминокислотным мотивам, предшествующим расщепляемому ими остатку аспартата. Некоторые каспазы (например, каспазы 2, 3, 6, 7, 8, 9 и 10) участвуют в протеолитических каскадах внутреннего и внешнего пути апоптоза, другие принимают участие в иных процессах (например, каспаза 1 участвует в созревании интерлейкина 1-бета и интерлейкина 18). Каспазы образуются при процессинге неактивных предшественников — смотри прокаспазы. У растений найдены каспазоподобные протеазы, названные фитаспазами. Они также высокоспецифичны к аминокислотному мотиву, заканчивающемуся аспартатом, но относятся к классу сериновых протеаз.

катаболизм

Общее название катализируемых ферментами реакций клетки, в которых сложные молекулы расщепляются до более простых с высвобождением энергии (рис. 2.36).

катализатор

Соединение, способное снизить энергию активации реакции (и, таким образом, увеличить ее скорость). Катализатор в ходе реакции не расходуется.

катастрофин

Белок, дестабилизирующий микротрубочковые структуры путем увеличения частоты быстрой разборки тубулиновых субъединиц с одного конца (частоты катастроф) (рис. 16.16).

катион

Положительно заряженный ион.

кДНК

Молекула ДНК, представляющая собой копию мРНК и, следовательно, лишённая интронных последовательностей, присутствующих в геномной ДНК.

кератин

Белок, образующий кератиновые промежуточные филаменты, встречающиеся, в основном, в эпителиальных клетках. Специализированные кератины присутствуют в волосах, ногтях и перьях.

кетон

Органическая молекула, содержащая карбонильную группу, связанную с двумя алкильными группами (приложение 2.1, стр. 172–173).

киллер — смотри клетка-киллер

киназа

Фермент, катализирующий присоединение фосфатной группы к молекулам. *Смотри также* протеинкиназа.

киназа фокальной адгезии (ФАК)

Цитоплазматическая тирозинкиназа, связанная с цитоплазматическими хвостами интегринов в соединениях клеток с матриксом (фокальных контактах).

кинезин

Представитель одного из двух основных классов моторных белков, использующий энергию гидролиза АТФ для движения вдоль микротрубочек (рис. 16.58).

кинетохор

Сложная белковая структура, формирующаяся на митотических хромосомах и служащая для прикрепления микротрубочек. Играет активную роль в движении хромосом к полюсам клетки. Образуется на хромосомной центромере (рис. 17.36).

кинетохорная микротрубочка

В митотическом или мейотическом веретене деления микротрубочка, соединяющая полюс веретена с кинетохором хромосомы.

кислота

Донор протонов. При растворении в воде высвобождает протоны (H^+), что приводит к образованию ионов гидроксония (H_3O^+) и понижению pH раствора.

класс I белков МНС

Один из двух классов белков МНС. Располагается на поверхности почти всех типов клеток позвоночных, где он презентует фрагменты присутствующих в клетке белков, в том числе пептиды, происходящие из заразивших организм внутриклеточных микробов (например, вирусов) цитотоксическим Т-клеткам (рис. 25.50).

класс II белков МНС

Один из двух классов белков МНС. Встречается на поверхности активированных антиген-презентирующих клеток, где он представляет пептидные фрагменты чужеродных белков хелперным Т-клеткам (рис. 25.50).

клатрин

Белок, образующий на цитоплазматической поверхности мембраны многогранную сеть, служащую для формирования окаймленных клатрином ямок. Клатриновые ямки затем отшнуровываются путем эндоцитоза с образованием внутриклеточных клатриновых везикул (рис. 13.6).

клетка сердечной мышцы — *смотри* мышечная клетка

клетка скелетных мышц — *смотри* мышечная клетка

клетка-киллер

Любая эукариотическая клетка, способная убить другую эукариотическую клетку.

клетка-кормилица (трофоцит, питающая клетка)

Клетка яичников беспозвоночных, связанная цитоплазматическими мостиками с развивающимся ооцитом и передающая ему рибосомы, мРНК и белки, необходимые для развития раннего зародыша (рис. 21.24).

клетки зародышевой линии

Гаплоидные гаметы и их диплоидные предшественники. Клетки зародышевой линии участвуют в образовании нового поколения организмов — в отличие от соматических клеток, формирующих тело и не оставляющих потомства.

клеточная линия

Популяция клеток растительного или животного происхождения, способная бесконечно делиться в культуре.

клеточная пластинка

Уплощенная мембранная структура, образующаяся в результате слияния ве-

зикул в цитоплазме делящейся растительной клетки. Служит предшественником новой клеточной стенки.

клеточная стенка

Механически прочный внеклеточный матрикс, выделяемый клеткой на внешнюю поверхность ее плазматической мембраны. Очень развита у большинства растений, бактерий, архей, водорослей и грибов. У большинства животных клеток отсутствует.

клеточное деление

Разделение клетки на две дочерние. В эукариотических клетках включает в себя деление ядра (митоз) и последующее деление цитоплазмы (цитокinesis).

клеточный сортер с возбуждением флуоресценции (FACS)

Прибор, сортирующий клетки, предварительно помеченные смесью специфических флуоресцентных маркеров, в соответствии с их интенсивностью флуоресценции (рис. 8.2).

клеточный кортекс

Специализированный слой цитоплазмы на внутренней поверхности плазматической мембраны. В животных клетках представляет собой обогащенный актином слой, отвечающий за движение клеточной поверхности.

клеточный цикл (цикл клеточного деления)

Репродуктивный цикл клетки: последовательность событий, в ходе которых клетка удваивает свои хромосомы и другие компоненты клетки и делится надвое (рис. 17.4).

клон

Популяция идентичных особей (клеток или организмов), произошедших от общего предка в результате бесполого деления.

клонирование гена

Создание множественных копий гена путем выращивания клона клеток-носителей (например, *E. coli*), в которые был введен данный ген и из которых его можно извлечь методами рекомбинантной ДНК.

коактиватор

Белок, сам по себе не связывающий ДНК, но собирающийся на других ДНК-связывающих белках-регуляторах генов для активации транскрипции (рис. 7.51).

ковалентная связь

Устойчивая химическая связь между двумя атомами, в которой атомы делят одну или несколько пар электронов (рис. 2.5 и приложение 2.1, стр. 172–173).

когезин, когезиновый комплекс

Комплекс белков, удерживающий сестринские хроматиды по всей длине до их расхождения (рис. 17.24).

кодон

Последовательность трех нуклеотидов в молекуле ДНК или мРНК, несущая информацию о том, какая аминокислота должна встретиться в растущую полипептидную цепь.

коиммунопреципитация (co-IP)

Метод выделения белков в комплексе при помощи антитела, специфичного к одному из партнеров.

коллаген

Фибриллярный белок, обогащенный глицином и пролином. Является основным компонентом внеклеточного матрикса животных и придает ему прочность. Существует в нескольких формах: тип I, наиболее распространенный, встречается в коже, связках и костях; тип II — в хрящах; тип IV — в базальной пластинке (рис. 3.23 и 19.66).

колониестимулирующий фактор (CSF)

Общее название секретируемых гликопротеинов, контролирующих дифференцировку клеток крови. Будучи растворимыми (в отличие от большинства мембраносвязанных цитокинов, участвующих в формировании гемопоэтического микроокружения), действуют системно, т.е. представляют собой пептидные гормоны.

кольцевой комплекс γ -тубулина (γ -TuRC)

Белковый комплекс, состоящий из γ -тубулина и других белков. Эффективно нуклеирует микротрубочки и экранирует их минус-концы.

коммитированные клетки-предшественники

Клетки с определенным направлением дифференцировки, например, лимфоидные, миелоидные, нервные или мышечные.

коммуникационные соединения

Сложный тип межклеточных соединений, позволяющий клеткам в местах контактов обмениваться сигналами через плазматическую мембрану. Обычно несут заякоривающие белки и белки, опосредующие передачу сигнала (рис. 19.2, и табл. 19.1, стр. 1741).

комплекс ARP (актиноподобный белок, комплекс ARP2/3)

Комплекс белков, нуклеирующий рост актиновых филаментов с минус-конца.

комплекс МНС (главный комплекс гистосовместимости)

Комплекс генов позвоночных, кодирующий большое семейство поверхностных гликопротеинов (белков МНС) (рис. 25.51).

комплекс TIM

Белковые транслокаторы внутренней мембраны митохондрий. Комплекс TIM23 опосредует транспорт белков в матрикс и встраивание некоторых белков во внутреннюю мембрану; комплекс TIM22 опосредует встраивание подгруппы белков во внутреннюю мембрану (рис. 12.23).

комплекс TOM

Мультисубъединичный белковый комплекс, транспортирующий белки через внешнюю мембрану митохондрий (рис. 12.23).

комплекс генов *Hox*

Кластер генов, кодирующий генные факторы регуляции. Каждый ген в комплексе содержит гомеодомен и определяет различия между сегментами тела. Мутации в *Hox* обычно приводят к гомеозисным изменениям.

комплекс перестройки хроматина

Ферментный комплекс, изменяющий структуру комплексов ДНК-гистоны в эукариотических хромосомах, что приводит к изменению доступности ДНК для других белков, в первую очередь, для белков, участвующих в репликации и транскрипции.

комплекс рекомбинации

В мейозе белковый комплекс, собирающийся на двунитевом разрыве ДНК и способствующий протеканию гомологичной рекомбинации.

комплекс узнавания точки начала репликации (ORC)

Крупный белковый комплекс, связанный с ДНК в точках начала репликации эукариотических хромосом на протяжении всего клеточного цикла (рис. 5.36).

комплекс циклин-Cdk

Белковый комплекс, периодически образующийся во время эукариотического клеточного цикла при увеличении концентрации определенного циклина. Его образование приводит к частичной активации циклин-зависимой киназы (Cdk) (рис. 17.15 и 17.16 и табл. 17.1, стр. 1635).

комплексование

Обратимое связывание, обычно с высоким родством, с ионом металла, например, железа, кальция или магния.

комплементарная ДНК — смотри кДНК**комплементарный**

(1) По отношению к последовательностям нуклеиновых кислот: способный образовывать идеальную пару оснований с другим основанием (рис. 4.4). (2) По отношению к другим взаимодействующим молекулам, например, ферментам и их субстратам: обладающий биохимическими или структурными свойствами, ускоряющими нековалентное связывание.

комплементация (генетическая комплементация)

Явление, при котором спаривание двух особей, обладающих ненормальным фенотипом, приводит к рождению потомства с нормальным (дикого типа) фенотипом. Лежит в основе проверки того, расположены ли две мутации в одном или разных генах (приложение 8.1, стр. 852–853).

конвергентное растяжение

Перестройка клеток в ткани, приводящая к расширению ткани в одном направлении и уменьшению в другом (рис. 22.76).

конверсия гена

Процесс, благодаря которому информация последовательности ДНК может быть перенесена с одной спирали ДНК (которая остается неизменной) на другую спираль, последовательность которой в результате изменяется. Часто происходит при общей рекомбинации (рис. 5.66).

конденсин (комплекс конденсина)

Комплекс белков, участвующий в конденсации хромосом перед митозом. Мишень M-Cdk (рис. 17.27).

коннексин

Белковый компонент щелевых контактов; четырехпроходный трансмембранный

белок. Шесть коннексинов в плазматической мембране образуют коннексон, или «полуканал» (рис. 19.34).

коннексон

Заполненная водой пора в плазматической мембране, образованная шестью коннексиновыми белковыми субъединицами. Половина щелевого контакта: коннексоны двух соседних клеток объединяются с образованием непрерывного канала, через который проходят ионы и небольшие молекулы (рис. 19.34).

консенсусная последовательность

Среднестатистическая или наиболее распространенная форма последовательности, воспроизводящаяся с небольшими вариациями в группе родственных последовательностей ДНК, РНК или белков. Указывает на нуклеотид или аминокислоту, чаще всего встречающиеся в данном положении. Консервативность последовательности говорит о том, что она функционально важна (рис. 6.12).

константа аффинности — смотри константа сродства

константа диссоциации (K_d)

Мера того, насколько комплекс склонен к диссоциации. Для компонентов А и В и простейшей реакции связывания ($A + B \rightleftharpoons AB$), константа диссоциации определяется выражением $[A][B]/[AB]$. Чем сильнее связывание А и В, тем меньше K_d . Константа диссоциации является величиной, обратной K_a , и измеряется в моль/л. *Смотри также* константа сродства, константа равновесия (рис. 3.43).

константа Михаэлиса-Ментен — смотри K_M

константа равновесия (K)

Отношение констант скоростей прямой и обратной реакций. Для простой реакции связывания ($A + B \rightleftharpoons AB$) равна константе аффинности (K_a). *Смотри также* константа сродства, константа диссоциации (рис. 3.43).

константа сродства (константа аффинности) (K_a)

Мера силы связывания компонентов комплекса. Для компонентов А и В и равновесия $A + B \rightleftharpoons AB$, константа аффинности определяется выражением $[AB]/[A][B]$. Чем сильнее связываются А и В, тем больше K_a . Измеряется в единицах моль/л (рис. 3.43).

конститутивный

Происходящий всегда, вне зависимости от условий; противоположный регулируемому.

конститутивный ген — смотри ген домашнего хозяйства

конститутивный секреторный путь

Путь, присутствующий во всех клетках. По нему молекулы, например, белки плазматической мембраны, непрерывно доставляются из аппарата Гольджи в плазматическую мембрану в сливающихся с ней пузырьках. Путь по умолчанию в плазматическую мембрану в отсутствие других сигналов сортировки (рис. 13.63).

контрольная точка

Точка эукариотического цикла клеточного деления, в которой прохождение цикла может быть остановлено до тех пор, пока не возникнут подходящие условия.

контрольная точка G₂/M (checkpoint)

Точка эукариотического клеточного цикла, в которой клетка проверяет завершенность репликации ДНК. Если ДНК удвоилась, запускаются ранние события митоза, приводящие к выстраиванию хромосом на веретене деления (рис. 17.4).

контрольная точка сборки веретена деления (контрольная точка перехода от метафазы к анафазе)

Контрольная точка митоза, во время которой проверяется правильность прикрепления хромосом к веретену деления до начала расхождения сестринских хроматид (рис. 17.14 и приложение 17.1, стр. 1648–1649).

конус роста

Мигрирующий подвижный кончик растущего аксона или дендрита нервной клетки (рис. 16.105).

конфокальный микроскоп

Тип светового микроскопа, позволяющий получить четкое изображение определенной плоскости внутри твердого объекта. В качестве точечного источника освещения в нем используется лазерный луч, сканирующий плоскость. В результате получается двумерный «оптический срез».

кооперативность

Явление, при котором связывание одной молекулы лиганда с молекулой-мишенью способствует связыванию других лигандов. Наблюдается при сборке крупных комплексов, а также в состоящих из нескольких аллостерических субъединиц ферментах и рецепторах, в которых она обостряет ответ на лиганд (рис. 15.25).

корепрессор

Белок, который сам по себе не связывает ДНК, но собирается на других ДНК-связывающих белках-регуляторах и способствует ингибированию экспрессии гена (рис. 7.51).

корцептор

В иммунологии: рецептор на поверхности В-клеток или Т-клеток, не взаимодействующий с антигеном, но связывающий другие молекулы и помогающий антиген-связывающим рецепторам активировать лимфоцит (рис. 25.57). Более общий случай: рецептор, действующий совместно с другим поверхностным рецептором и помогающий клетке отвечать на секретлируемые сигнальные белки. Примеры: LRP (в сигнальном пути Wnt/ β -катенин) и поверхностные протеогликаны (рис. 15.77).

коррекция

Процесс, при помощи которого происходит обнаружение и исправление возможных ошибок репликации, транскрипции и трансляции ДНК.

кортикальная гранула

Специализированный секреторный пузырек, располагающийся под плазматической мембраной неоплодотворенных яйцеклеток, в том числе, яйцеклеток млекопитающих. Содержимое кортикальных гранул, высвобождаемое экзоцитозом после оплодотворения, изменяет оболочку яйцеклетки таким образом, чтобы она лучше пропускала сперматозоиды.

котрансляционный

Происходящий одновременно с трансляцией. Например, импорт белка в эн-

доплазматический ретикулум до завершения синтеза полипептидной цепи (контрансляционная транслокация, рис. 12.35) и сворачивание новосинтезированного белка во вторичную или третичную структуру по мере его выхода из рибосомы (рис. 6.84).

котранспорт (сопряженный транспорт)

Процесс мембранного транспорта, при котором перенос одной молекулы зависит от одновременного или последовательного переноса второй молекулы (рис. 11.8).

кофактор

Неорганический ион или кофермент, необходимый для активности фермента.

кофермент

Небольшая молекула, крепко связанная с ферментом и участвующая в катализируемой им реакции часто за счет образования ковалентной связи с субстратом. К коферментам относятся биотин, NAD^+ и кофермент А.

кофермент А (КоА, СоА)

Небольшая молекула, участвующая в ферментативном переносе ацильных групп. *Смотри также* acetylCoA и рис. 2.26.

красная клетка крови — смотри эритроцит

крахмал

Полисахарид, состоящий исключительно из остатков глюкозы; используется растительными клетками для запасания энергии (рис. 2.75).

криптохром

Флавопротеин растений и животных, чувствительный к синему свету. У животных участвует в циркадных ритмах.

кроста

Инвагинация внутренней мембраны митохондрий.

критическая концентрация

Концентрация мономера белка, например, актина или тубулина, при которой мономер находится в равновесии с полимерной формой белка (т.е. с актиновыми филаментами или микротрубочками, соответственно) (приложение 16.2, стр. 1496–1497).

кровообразование

Образование клеток крови; в основном, этот процесс протекает в костном мозге (рис. 23.42).

кровообразующая стволовая клетка

Самообновляющаяся клетка костного мозга, от которой происходят все типы клеток крови, а также некоторые другие клетки.

кроссинговер (перекрест)

При мейотической рекомбинации участок на спаренных хромосомах, в котором фрагмент материнской хроматиды обменивается на соответствующий фрагмент гомологичной отцовской хроматиды (рис. 21.6 и 21.10).

ламеллоподия

Поддерживаемый сетью актиновых филаментов уплощенный вырост на ведущем конце ползущей животной клетки (рис. 16.86 и 16.87).

ламина — *смотри* ядерная ламина

ламинин

Фибриллярный белок внеклеточного матрикса, формирующий в базальных пластинках плоскую сеть (рис. 19.42 и 19.43).

«ламповая щетка»

Огромная спаренная хромосома в мейозе незрелых яйцеклеток земноводных, в которой хроматин на продольной оси хромосомы образует большие жесткие петли.

легкая цепь (L-цепь)

Один из меньших полипептидов мультисубъединичного белка, например, миозина (рис. 16.72) или иммуноглобулина (рис. 25.21).

лейкоз (лейкемия)

Рак кроветворной системы. Злокачественный клон может происходить как из гемопоэтических клеток костного мозга, так и из более дифференцированных белых клеток крови.

лейкоцит — *смотри* белая клетка крови

лейциновая застежка («застежка-молния»)

Структурный мотив, встречающийся во многих ДНК-связывающих белках. В лейциновой застежке две α -спирали разных белков образуют двойную биспираль (похожую на застежку-молнию), т. е. белки димеризуются.

лектин

Белок, связывающий определенный сахар или олигосахарид. Лектины многих семян используются в качестве аффинных реагентов для очищения и обнаружения поверхностных гликопротеинов.

лептин

Пептидный гормон, секретируемый жировыми клетками. Способствует регуляции желаяния поесть путем подавления аппетита.

летальная мутация

Мутация, вызывающая гибель несущей ее клетки или организма (приложение 8.1, стр. 852–853).

лецитин — *смотри* фосфатидилхолин

лигаза

Фермент, соединяющий (лигирующий) две молекулы в энергозависимом процессе. ДНК-лигаза, например, соединяет вместе через фосфодиэфирные связи концы двух молекул ДНК.

лиганд

Любая молекула, связывающаяся с определенным сайтом на белке или другой молекуле. От латинского *ligare* — связывать.

лигнин

Сеть поперечно связанных фенольных соединений, образующая поддерживающий слой в клеточных стенках ксилемы и древесины растений.

лизис

Разрыв плазматической мембраны клеток, приводящий к высвобождению цитоплазмы и гибели клетки.

лизосома

Мембранная органелла эукариотических клеток, содержащая пищеварительные ферменты, активность которых максимальна при кислом рН люмена лизосом (рис. 12.2 и 13.37).

лизоцим

Фермент, катализирующий расщепление полисахаридных цепей в клеточной стенке бактерий.

лимфа

Бесцветная жидкость, содержащая лимфоциты и текущая по лимфатическим сосудам (рис. 25.3).

лимфоидный орган

Орган, участвующий в образовании или функционировании лимфоцитов. Лимфоциты образуются, в основном, в центральных лимфоидных органах и взаимодействуют с антигенами в периферических лимфоидных органах (рис. 25.3).

лимфома

Рак лимфоцитов, при котором раковые клетки располагаются, в первую очередь, в лимфоидных органах (а не в крови, как при лейкозе). В силу общего гемопоэтического происхождения между лимфомой и лейкозом невозможно провести четкую границу.

лимфоцит

Белая клетка крови, отвечающая за специфичность приобретенного иммунного ответа. Два основных типа: В-лимфоциты, синтезирующие антитела, и Т-клетки, напрямую взаимодействующие с другими эффекторными клетками иммунной системы и зараженными клетками. Т-клетки развиваются в тимусе и отвечают за клеточный иммунитет. В-клетки развиваются в костном мозге млекопитающих и отвечают за синтез циркулирующих антител (рис. 25.7).

липаза

Фермент, катализирующий отщепление жирных кислот от глицерина в триглицеридах.

липид

Органическая молекула, нерастворимая в воде, но растворимая в неполярных органических растворителях. Особый класс липидов, фосфолипиды, служат структурной основой биологических мембран (приложение 2.5, стр. 180–181).

липидный бислой (фосфолипидный бислой)

Тонкий двойной слой фосфолипидных молекул, служащий основой всех мембран. Два слоя липидных молекул упакованы таким образом, что их гидрофобные хвосты направлены внутрь, а гидрофильные головки наружу, к воде (рис. 2.22 и приложение 2.5, стр. 180–181).

липидный рафт

Небольшой участок плазматической мембраны, обогащенный сфинголипидами и холестерином (рис. 10.14).

липопротеин низкой плотности (ЛНПД, ЛНП)

Крупный комплекс, состоящий из единственной белковой молекулы и большого числа этерифицированных молекул холестерина и других липидов. В такой форме холестерин транспортируется в крови и захватывается клетками (рис. 13.50).

липосома

Искусственная липидная бислойная везикула, образующаяся в воде из фосфолипидов (рис. 10.9).

липофильный — смотри гидрофобный**локальный медиатор**

Секретируемая сигнальная молекула, локально воздействующая на расположенные рядом клетки (рис. 15.4).

локус

В генетике: положение на хромосоме. Например, в диплоидной клетке разные аллели одного гена располагаются в одном локусе.

локус типа спаривания (Mat-локус)

У почкующихся дрожжей локус, определяющий тип спаривания (α или a) гаплоидной дрожжевой клетки (рис. 7.65).

люмен эндоплазматического ретикулума (просвет эндоплазматического ретикулума)

Пространство, окруженное мембраной эндоплазматического ретикулума (ЭР).

лямбда — смотри бактериофаг лямбда**макрофаг**

Фагоцитирующая клетка, развивающаяся из моноцитов крови. Встречаются в большинстве тканей, но способны мигрировать. В иммунном ответе одновременно выполняют функции фагоцитов и антиген-презентирующих клеток. (рис. 24.53)

малая интерферирующая РНК (короткая интерферирующая РНК, киРНК, siРНК)

Короткая (21–26 нуклеотидов) двухцепочечная РНК, ингибирующая экспрессию генов путем направленного разрушения комплементарных РНК. Образование киРНК запускается экзогенно введенной двухцепочечной РНК (рис. 7.115).

малая ядерная РНК (snРНК)

Небольшие молекулы РНК, образующие с белками рибонуклеопротеидные комплексы (snРНП), участвующие в сплайсинге РНК (рис. 6.29 и 6.30).

малая ядрышковая РНК (snoРНК)

Малые РНК ядрышка, выполняющие различные функции, включая регуляцию модификаций предшественников рРНК (табл. 6.1, стр. 516, и рис. 6.43).

малый внутриклеточный медиатор — смотри вторичный посредник**малый ядерный рибонуклеопротеид (snРНП)**

Комплекс snРНК с белками, частично формирующими сплайсосому (рис. 6.29).

маннозо-6-фосфат (М6Ф, М6Р)

Уникальный маркер олигосахаридов некоторых гликопротеинов, направляемых в лизосомы (рис. 13.43).

масс-спектрометрия (МС)

Метод идентификации соединений на основе свойственного веществу отношения массы к заряду. Эффективный метод идентификации белков и секвенирования полипептидов (рис. 8.21).

матрикс

Пространство или поддерживающая среда, внутри которых что-либо формируется. (1) Крупный внутренний компартмент митохондрий. (2) Соответствующий компартмент хлоропластов, который обычно называют стромой. (3) Внеклеточный матрикс. Внеклеточные секретируемые белки и полисахариды, в которые погружены клетки (рис. 14.37).

матриксная металлопротеаза

Ca^{2+} - или Zn^{2+} -зависимый протеолитический фермент внеклеточного матрикса, деградирующий матриксные белки. К металлопротеазам относятся коллагеназы.

матричная цепь (матричная нить)

Нить ДНК или РНК, нуклеотидная последовательность которой служит матрицей для синтеза комплементарной цепи (рис. 1.3).

матричная РНК (мРНК)

Молекула РНК, определяющая аминокислотную последовательность белка. В эукариотах образуется путем процессинга молекулы РНК, синтезированной РНК-полимеразой в соответствии с матричной нитью ДНК. Транслируется в белок в процессе, катализируемом рибосомами (рис. 6.21 и 6.22).

мегакариоцит

Крупная миелоидная клетка с многолопастным ядром, остающаяся в костном мозге после созревания. От ее длинных цитоплазматических выростов отщипываются тромбоциты (рис. 23.40 и 23.42).

медиатор-зависимый ионный канал (рецептор, сопряженный с ионным каналом; ионотропный рецептор)

Ионный канал химических синапсов постсинаптической плазматической мембраны нервных и мышечных клеток. Открывается только в ответ на связывание определенного внеклеточного нейромедиатора. В результате, ионный ток приводит к генерации в постсинаптической клетке локального электрического сигнала (рис. 15.16 и 11.35).

межполюсные микротрубочки

В митотическом или мейотическом веретене деления микротрубочки, перекрывающиеся на экваторе клетки с микротрубочками, выходящими из противоположного полюса (рис. 16.85).

мезенхима

Незрелая, неспециализированная форма соединительной ткани животных, состоящая из клеток, погруженных в тонкий внеклеточный матрикс.

мезодерма

Один из трех зародышевых листков, эмбриональная ткань, служащая пред-

шественником мышц, соединительной ткани, скелета и многих внутренних органов (рис. 22.3 и 22.70).

мейоз

Особый тип клеточного деления, связанный с половым размножением. Включает в себя два последовательных ядерных деления с одним этапом удвоения ДНК. Таким образом, в результате мейоза из диплоидной клетки образуются гаплоидные клетки (рис. 21.5).

меланоцит

Клетка, синтезирующая темный пигмент меланин. Отвечает за пигментацию кожи и волос (рис. 23.1).

мембрана

Липидный бислой и связанные с ним белки, окружающие все клетки, а в эукариотических клетках еще и многие органеллы (рис. 10.1).

мембранный канал — *смотри* канал

мембранный потенциал

Разница потенциалов на мембране, возникающая в результате небольшого избытка положительных зарядов с одной стороны и отрицательных — с другой. Типичный мембранный потенциал плазматической мембраны животной клетки составляет -60 мВ (внутри отрицательный по отношению окружающей жидкости) (рис. 11.22).

мембранный потенциал покоя

Мембранный потенциал в условиях равновесия, когда нет тока ионов через плазматическую мембрану. *Смотри также* мембранный потенциал.

мембранный транспорт

Движение молекул через мембрану, опосредуемое мембранными транспортными белками (рис. 11.3 и 11.4).

мембранный транспортный белок

Мембранный белок, опосредующий прохождение ионов или молекул через мембрану. Основными классами являются транспортеры (также называемые переносчиками или пермеазами) и каналы (рис. 11.3 и 11.4).

мембраносвязанная рибосома

Рибосома, прикрепленная к цитоплазматической поверхности эндоплазматического ретикулума. Место синтеза белков, входящих в эндоплазматический ретикулум (рис. 12.41).

меристема

Структурированная группа делящихся клеток, потомки которых станут тканями и органами цветкового растения. Например, апикальные меристемы на кончиках побегов и корней (приложение 22.2, стр. 2146–2147, и рис. 22.118).

метаболизм

Все химические процессы, протекающие в живых клетках. Катаболизм и анаболизм (рис. 2.36).

метастаз

Отдаленный вторичный очаг патологического процесса. Обычно подразумева-

ется распространение раковых клеток из места их возникновения в другие ткани и органы, но иногда термин используют, когда говорят о других патологиях, например о сепсисе (рис. 20.1 и 20.17).

метафаза

Стадия митоза, во время которой хромосомы прикреплены к веретену деления на его экваторе, но еще не разошлись к противоположным полюсам (приложение 17.1, стр. 1648–1649).

метафазная пластинка

Воображаемая плоскость, перпендикулярная митотическому веретену деления и располагающаяся посередине между его полюсами; плоскость, в которой выстраиваются хромосомы в метафазе (приложение 17.1, стр. 1648–1649).

метилирование ДНК

Присоединение к ДНК метильных групп. У позвоночных обильное метилирование цистеиновых оснований в последовательностях CG используется для подержания генов в неактивном состоянии.

метильная группа (-CH₃)

Гидрофобная химическая группа — производное метана (CH₄).

метод локальной фиксации потенциала — *смотри* пэтч-кламп

методы рекомбинантных ДНК — *смотри* генетическая инженерия

метод сдвига электрофоретической подвижности (метод задержки в геле, gel-mobility shift assay)

Метод обнаружения белков, связанных со специфической последовательностью ДНК. Основан на том факте, что связанный белок замедляет миграцию фрагмента ДНК через гель при электрофорезе (рис. 7.27).

миелиновая оболочка

Изоляционный слой, представляющий собой специализированную клеточную мембрану, обернутую вокруг аксонов позвоночных. Образован олигодендроцитами в центральной нервной системе и шванновскими клетками в периферической нервной системе (рис. 11.32).

миелоидная клетка

Любая клетка костномозгового происхождения, за исключением лимфоцитов (рис. 23.42).

микроворсинка

Тонкий цилиндрический окруженный мембраной вырост поверхности животной клетки. Содержит актиновые филаменты. В большом количестве присутствуют на всасывающей поверхности эпителиальных клеток кишечника (рис. 16.50).

микрон (μм или микрометр)

Единица измерения, равная 10⁻⁶ метра или 10⁻³ миллиметра.

микроРНК (miРНК)

Короткие (21–26 нуклеотидов) эукариотические РНК, образующиеся в результате процессинга специфических транскриптов РНК, кодируемых геномом. Регулируют экспрессию генов путем комплементарного спаривания с мРНК. В за-

висимости от количества комплементарно спаренных оснований miРНК могут привести к разрушению мРНК или блокировке трансляции (рис. 7.112).

микросома

Небольшая везикула, при гомогенизации клеток образующаяся из эндоплазматического ретикулума путем фрагментации (рис. 12.37).

микротрубочка

Длинная, полая, цилиндрическая структура, состоящая из белка тубулина. Представляет собой один из трех основных классов филаментов цитоскелета (приложение 16.1, стр. 1484).

микротрубочковый ток

Движение отдельных тубулиновых молекул микротрубочек веретена деления в направлении полюсов за счет потери тубулина с минус-концов. Способствует движению сестринских хроматид к полюсам после их расхождения в анафазе (рис. 17.41).

микрофиламент — смотри актиновый филамент

микрошипик — смотри филоподия

минус-конец

Конец микротрубочки или актинового филамента, к которому присоединение мономеров происходит медленно. Минус-конец актиновых филаментов также называют заостренным концом (приложение 16.2, стр. 1496–1497).

миобласт

Одноядерная недифференцированная клетка-предшественник мышц. Клетки скелетных мышц образуются в результате слияния многочисленных миобластов (рис. 23.48).

миозин

Представитель крупного класса моторных белков, движущихся вдоль актиновых филаментов (рис. 16.57).

миофибрилла (мышечная фибрилла, мышечное волокно)

Длинный, высокоорганизованный пучок актина, миозина и других белков, расположенный в цитоплазме мышечных клеток и сокращающийся за счет скольжения филаментов относительно друг друга.

миоэпителиальная клетка

Тип непоперечнополосатых мышечных клеток, встречающийся в эпителии, например, в радужке глаза или железистой ткани (рис. 23.47).

митоген

Внеклеточная сигнальная молекула, стимулирующая пролиферацию клеток.

митоген-активируемая протеинкиназа — смотри MAP-киназа

митоз

Деление ядра эукариотической клетки, включающее в себя конденсацию ДНК в видимые хромосомы и расхождение удвоенных хромосом с образованием двух идентичных наборов. От греческого *mitos* — нить, из-за внешнего вида конденсированных хромосом (приложение 17.1, стр. 1648–1649).

митотическая хромосома

Конденсированная удвоенная хромосома, в которой две новые хромосомы удерживаются вместе в центромере как сестринские хроматиды.

митотическое веретено деления

Структура, состоящая из микротрубочек и связанных с ними молекул и образующаяся между противоположными полюсами эукариотической клетки во время митоза. Служит для разделения удвоенных хромосом (рис. 17.28 и приложение 17.1, стр. 1648–1649).

митохондрия

Мембранная органелла размером с бактерию, в которой протекает окислительное фосфорилирование и синтезируется большая часть АТФ клетки (рис. 1.33).

многопроходный трансмембранный белок

Мембранный белок, полипептидная цепь которого пронизывает липидный бислой более одного раза (рис. 10.19).

мобильный генетический элемент (подвижный генетический элемент)

Генетический элемент (фрагмент ДНК), способный перемещаться или копировать себя в другую часть генома.

модельный организм

Вид, интенсивно исследовавшийся на протяжении длительного промежутка времени, и поэтому служащий «моделью» для изучения фундаментальных биологических процессов.

мозаицизм (генетический мозаицизм)

В биологии развития организм, состоящий из смеси клеток с различными генотипами, но развивающийся из одной зиготы. Мозаицизм может возникнуть естественно, в результате мутации клеток, из которых развиваются новые ткани, или может быть создан искусственно — для целенаправленного генетического анализа. *Сравни* химера.

молекула адгезии нервных клеток (NCAM)

Молекула клеточной адгезии из семейства иммуноглобулинов, экспрессируемая во многих типах клеток, включая большинство нейронов. У позвоночных опосредует независимую от Ca^{2+} межклеточную адгезию (рис. 19.20).

молекула клеточной адгезии — смотри CAM**молекулярная масса (относительная молекулярная масса)**

Отношение массы молекулы к массе атома водорода (строго говоря, относительно $1/12$ массы атома ^{12}C , т. е. одного дальтона).

молекулярный шаперон — смотри шаперон**моль**

X граммов химического соединения, где X — относительная молекулярная масса. Моль состоит из 6.02×10^{23} молекул соединения.

молярность (M)

Число молей растворенного вещества в одном литре раствора. «Одномолярный» раствор (1 M) содержит 1 моль вещества, растворенного в 1 литре раствора.

моноклональное антитело

Антитело, секретируемое гибридомной клеточной линией. Поскольку гибридома образуется путем слияния единственной В-клетки с единственной опухолевой клеткой, одна гибридома синтезирует идентичные антитела (рис. 8.8).

мономер

Небольшая молекула, которая, связываясь с другими молекулами того же типа, служит строительным блоком для синтеза более крупной молекулы (полимера).

мономерная ГТРаза — *смотри* ГТРаза**моносахарид**

Органическое соединение класса углеводов, простой сахар. Описывается формулой $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O})_n$, где n от трех до 8 (приложение 2.4, стр. 178-179).

моноцит

Тип белых клеток крови, покидающих кровяное русло и развивающихся в тканях в макрофаги.

морфоген

Сигнальная молекула, контролирующая морфогенез, т.е. способная структурировать группу клеток, заставляя клетки, находящиеся в разных участках эмбриона, развиваться по-разному, в соответствии с планом строения тела (рис. 22.13).

мотив

Элемент структуры, повторяющийся в различных контекстах. Более точно, небольшой структурный домен, встречающийся в разнообразных белках.

моторный белок

Белок, использующий энергию гидролиза нуклеозидтрифосфатов для движения по линейной траектории (белковому филаменту или другой полимерной молекуле).

мРНК — *смотри* матричная РНК**мультимерный**

По отношению к белкам: содержащий более одной субъединицы.

мультипотентная клетка

клетка, способная дать начало нескольким типам клеток организма в пределах своего зародышевого листка.

мутация

Наследственное изменение последовательности нуклеотидов в хромосоме (приложение 8.1, стр. 852–853).

мутация с потерей функции

Мутация, снижающая или устраняющая активность гена. Обычно рецессивная (приложение 8.1, стр. 852–853).

мутация с приобретением функции

Мутация, усиливающая активность гена или делающая его активным в условиях, в которых он в норме не работает. Такие мутации обычно доминантные.

М-фаза

Период эукариотического клеточного цикла, во время которого конденсируются хромосомы, и ядро и цитоплазма делятся.

М-циклин

Циклин эукариотических клеток, способствующий запуску событий митоза (рис. 17.16).

мышечная клетка

Тип клеток, специализированный на сокращениях. Основными классами являются клетки скелетных мышц, сердечной мышцы и гладких мышц (рис. 23.47).

NAD⁺/NADH (никотинамидадениндинуклеотид/восстановленный никотинамидадениндинуклеотид)

Система переноса электронов, участвующая в окислительно-восстановительных реакциях, например, в окислении пищевых молекул. NAD⁺ принимает эквивалент гидрид-иона (H⁻, протон и два электрона) и становится активированным переносчиком — NADH. Образовавшийся NADH отдает свои высокоэнергетические электроны в генерирующий АТФ процесс окислительного фосфорилирования (рис. 2.86).

нанометр (нм)

Единица длины, обычно используемая для измерения молекул и клеточных органелл. 1 нм = 10⁻³ микрометра = 10⁻⁹ метра.

насос

Трансмембранный белок, обеспечивающий активный транспорт ионов или малых молекул через липидный бислой.

натуральный киллер — смотри естественный киллер**нейральная стволовая клетка**

Клетка, способная к дифференцировке в различные типы нейронов и в клетки глии.

нейрит

Длинный отросток культивируемых нервных клеток. Общий термин, не дифференцирующий между аксонами и дендритами (рис. 16.105).

нейробласт

Клетка — эмбриональный предшественник нервных клеток (рис. 22.66).

нейромедиатор

Небольшая сигнальная молекула, секретируемая нервной клеткой в химическом синапсе для передачи сигнала постсинаптической клетке. К нейромедиаторам относятся ацетилхолин, глутамат, глицин и многие нейропептиды.

нейрон (нервная клетка)

Проводящая электрические импульсы клетка нервной системы. Имеет отростки, специализированные для получения, проведения и передачи сигналов (рис. 22.93 и 22.94).

нейропептид

Пептид, секретируемый нейронами в качестве сигнальной молекулы в синапсах и т.п.

нейрофиламент

Тип промежуточных филаментов, свойственный нервным клеткам (рис.16.22).

нейроэпителий

Разновидность эпителия, расположенного в органах чувств и осуществляющего рецепторные функции. В состав нейроэпителия входят сенсорные клетки сетчатки глаза, внутреннего уха, слизистой оболочки полости носа и вкусовых сосочков языка.

нейтрон

Незаряженная тяжелая субатомная частица, входящая в состав ядер атомов (рис. 2.1)

нейтрофил

Белая клетка крови, захватывающая определенные молекулы посредством фагоцитоза. Входит в зараженные или воспаленные ткани. (рис. 24.55 и 25.24)

нековалентная связь (нековалентное притяжение, нековалентное взаимодействие)

Химическая связь, в которой, в отличие от ковалентной связи, атомы не делят между собой электроны. Нековалентные связи относительно слабые, но, если их много, они могут привести к сильным, высокоспецифичным взаимодействиям между молекулами (приложение 2.3, стр. 176–177).

нерасхождение хромосом

Событие, иногда происходящее во время мейоза, когда пара гомологичных хромосом не разделяется. Приводит к тому, что образовавшаяся клетка зародышевой линии несет избыточное или недостаточное число хромосом.

нервная клетка — смотри нейрон**нервная трубка**

Трубка эктодермы, из которой в зародышах позвоночных образуются головной и спинной мозг (рис. 22.78).

нервно-мышечное соединение

Специализированный химический синапс между окончанием аксона моторного нейрона и клеткой скелетной мышцы (рис. 11.36 и 11.39).

нервный гребень

Набор клеток, расположенный вдоль линии, на которой происходит отщепление нервной трубки от окружающего эпидермиса в зародышах позвоночных. Клетки нервного гребня мигрируют и дают начало разнообразным тканям, включая нейроны и глию периферической нервной системы, пигментные клетки кожи и кости лица и челюстей (рис. 19.11, 22.84, 22.97).

нервный импульс — смотри потенциал действия**нетранслируемый участок (UTR)**

Некодирующая область молекулы мРНК. 3'UTR начинается со стоп-кодона, останавливающего синтез белка, и заканчивается поли(А)-хвостом (рис. 7.105). 5'UTR начинается с 5'-кэпа и заканчивается старт-кодоном, инициирующим синтез белка.

нециклическое фосфорилирование

Фотосинтетический процесс, в котором у бактерий и растений образуются АТФ и NADPH (рис. 14.49).

никотинамидадениндинуклеотид — *смотри* NAD^+/NADH

никотинамидадениндинуклеотидфосфат — *смотри* $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$

ниша стволовых клеток

Специализированное микроокружение в ткани, где поддерживаются самообновляющиеся стволовые клетки (рис. 23-27).

нм — *смотри* нанометр

нозерн-блоттинг

Метод, в котором разделенные электрофорезом фрагменты РНК иммобилизуют на нитроцеллюлозной или нейлоновой мембране, после чего определенную РНК находят путем гибридизации с меченым образцом нуклеиновой кислоты.

нокаут

В генной инженерии: делеция или инактивирующая мутация гена.

нонсенс-опосредованный распад мРНК (деградация мРНК, несущих преждевременный стоп-кодон, NMD)

Механизм деградации неправильных мРНК, содержащих в рамке считывания внутренние стоп-кодоны, до того, как они могут быть транслированы в белок (рис. 6.80).

нуклеаза

Фермент, расщепляющий нуклеиновые кислоты путем гидролиза связей между нуклеотидами. *Смотри также* эндонуклеаза и экзонуклеаза.

нуклеаза рестрикции (рестрикционный фермент, рестриктаза, эндонуклеаза рестрикции)

Представитель крупного семейства нуклеаз, способный расщеплять молекулу ДНК в сайте со строго определенной последовательностью нескольких нуклеотидов. Широко используются в методах рекомбинантных ДНК (рис. 8.31 и 8.32).

нуклеация (зарождение, зародышеобразование)

Ключевой этап сборки полимерной структуры, например, микротрубочки, во время которого образуется небольшой кластер мономеров и запускается быстрая полимеризация (приложение 16.2, стр. 1497–1497). В общем случае лимитирующий этап процесса сборки.

нуклеиновая кислота

РНК или ДНК; макромолекула, состоящая из цепочки нуклеотидов, связанных фосфодиэфирными связями.

нуклеозид

Пуриновое или пиримидиновое основание, ковалентно связанное с сахарами рибозой или дезоксирибозой (приложение 2.6, стр. 182–183).

нуклеокапсид

Вирусная нуклеиновая кислота и окружающий ее белковый капсид. Если есть вирусная оболочка, то она окружает нуклеокапсид (рис. 13.19).

нуклеопорин

Любой белок, входящий в состав ядерных поровых комплексов.

нуклеосома

Гранулярная структура в эукариотическом хроматине. Сформирована из октамерного гистонового стержня с плотно обвитой вокруг него ДНК (нуклеосомный кор) плюс линкерной ДНК, связывающей два соседних кора. В среднем в нуклеосому входит около 200 пар нуклеотидов ДНК: 147 составляют кор и до 80 п.н. может входить в линкер. Нуклеосома — основная структурная единица хроматина (рис. 4.23 и 4.24).

нуклеотид

Нуклеозид с одной или несколькими фосфатными группами, присоединенными к остатку сахара через эфирные связи. ДНК и РНК представляют собой полимеры соответствующих нуклеотидов (приложение 2.6, стр. 182–183).

нуль-мутация

Мутация с потерей функции, полностью выключающая активность гена (приложение 8.1, стр. 852–853).

облегченная диффузия — *смотри* пассивный транспорт

облигатный ген — *смотри* ген домашнего хозяйства

оболочечный вирус

Вирус, капсид которого окружен липидным бислоем (оболочкой), произошедшим от плазматической мембраны клетки-хозяина в результате отпочковывания вируса от клетки (рис. 24.15).

обонятельный нейрон

Сенсорная клетка в назальном обонятельном эпителии, отвечающая за регистрацию запахов. Каждый обонятельный нейрон реагирует на один тип химических веществ.

обратная генетика

Подход к определению функции гена, при котором начинают с ДНК (гена) и белкового продукта и создают мутанты для анализа функции гена.

обратная транскриптаза

Фермент, впервые обнаруженный у ретровирусов и синтезирующий двунитевую ДНК с одонитевой молекулы РНК.

обратная транскрипция

Транскрипция с РНК в ДНК. Происходит в обратном направлении по сравнению с положением центральной догмы, согласно которой ДНК транскрибируется в РНК, а РНК — в белок.

общая рекомбинация, общая генетическая рекомбинация — *смотри* гомологичная рекомбинация

общий фактор транскрипции

Любой белок, сборка которого на промоторе необходима для связывания и активации РНК-полимеразы и инициации транскрипции (табл. 6.3, стр. 524).

овуляция

Высвобождение зрелой яйцеклетки из яичника (рис. 21.26).

однонуклеотидный полиморфизм (SNP)

Вариации между особями одной популяции в определенном нуклеотиде последовательности ДНК.

однопроходный трансмембранный белок

Мембранный белок, полипептидная цепь которого пронизывает мембрану только один раз (рис. 10.19).

окаймленный пузырек

Маленькая мембранная органелла, несущая на цитоплазматической поверхности сеть белков (кайму). Образуется в результате отшнуровывания окаймленного участка мембраны (окаймленной ямки). Кайма может состоять из клатрина или других белков.

окисление

Потеря атомом электронов, что происходит, например, кислорода или при удалении из молекулы водорода. Противоположный восстановлению процесс (рис. 2.43).

окислительно-восстановительная пара (редокс-пара)

Пара молекул, в которой одна служит электронным донором, а вторая — электронным акцептором в окислительно-восстановительной реакции: например, NADH (донор электронов) и NAD⁺ (акцептор электронов) (приложение 14.1, стр. 1276).

окислительно-восстановительная реакция (редокс-реакция)

Реакция, в которой один из реагентов окисляется, а другой — восстанавливается (приложение 14.1, стр. 1276).

окислительно-восстановительный потенциал (редокс-потенциал)

Сродство окислительно-восстановительной пары к электронам, обычно измеряемое как разность потенциалов между эквимольной смесью пары и электродом сравнения. NADH/NAD⁺ имеет низкий редокс-потенциал, а O₂/H₂ — высокий редокс-потенциал (высокое сродство к электронам) (приложение 14.1, стр. 1276).

окислительное фосфорилирование

Процесс в бактериях и митохондриях, при котором синтез АТФ происходит за счет переноса электронов по электрон-транспортной цепи на кислород. Включает в себя промежуточное формирование протонного градиента (градиента рН) через мембрану и хемиосмотическое сопряжение этого градиента с АТФ-синтазой (рис. 14.10 и 14.14).

оксид азота (NO)

Сигнальная молекула, участвующая во многих процессах межклеточного взаимодействия как у животных, так и у растений (рис. 15.12).

оксидаза

Фермент, катализирующий реакцию окисления, в первую очередь тогда, когда акцептором электронов служит молекулярный кислород.

олигодендроцит

Глиальная клетка центральной нервной системы позвоночных, формирующая миелиновые оболочки аксонов. *Сравни* шванновская клетка.

олигомер

Короткий полимер; например, олигосахарид, олигопептид, олигонуклеотид.

олигосахарид

Короткая линейная или разветвленная цепь ковалентно связанных сахаров (приложение 2.4, стр. 178–179).

онкоген

Измененный ген, чей продукт способен действовать доминантно и превращать клетку в раковую. Обычно онкоген представляет собой мутантную форму нормального гена (прото-онкогена), участвующего в контроле роста и деления клеток (рис. 20.27).

онкогенный вирус

Вирус, способствующий превращению клетки в раковую. Как правило, вирусный онкогенез требует накопления дополнительных мутаций, поэтому между первичной вирусной инфекцией и клиническим проявлением опухоли проходит очень значительное время (в случае вирус-ассоциированных опухолей человека, десятки лет).

оогенез

Образование и созревание ооцитов в яйчниках (рис. 21.23).

ооцит

Развивающаяся яйцеклетка до завершения мейоза (рис. 21.25 и 21.26).

оператор

Короткий участок ДНК бактериальной хромосомы, контролирующий транскрипцию прилегающего гена (рис. 7.34).

оперон

В бактериальной хромосоме группа последовательных генов, транскрибируемых в одну молекулу мРНК (рис. 7.34).

оплодотворение

Слияние мужской и женской (гаплоидных) гамет с образованием диплоидной зиготы, развивающейся в новый организм.

опосредованный Т-клетками иммунный ответ

Любой приобретенный иммунный ответ, опосредованный антиген-специфическими Т-клетками.

опухолевый супрессор — *смотри* ген-супрессор опухоли**опухоль**

Патологическая масса клеток, образующаяся в результате нарушения контроля пролиферации. Опухоль может быть неинвазивной (доброкачественной) и инвазивной (раковой, злокачественной) (рис. 20.3).

органелла

Субклеточный компартмент или крупный макромолекулярный комплекс, часто окруженный мембраной, и обладающий определенной структурой, составом и функцией. К органеллам относятся ядро, ядрышко, митохондрия, аппарат Гольджи, центросомы и т.д. (рис. 1.30).

организатор (организационный центр Шлемана)

Специализированная ткань на дорсальной губе бластопора зародышей земно-

водных; источник сигналов, способствующих организации и формированию оси тела зародыша. (Был обнаружен Х. Шпеманом и Х. Мангольд.) (рис. 22.74)

ориджин репликации — *смотри* точка начала репликации

ОРС — *смотри* открытая рамка считывания

ортологи

Гены или белки разных биологических видов, сходные по последовательности благодаря происхождению от одного гена последнего общего потомка этих видов. *Сравни* паралоги (рис. 1.25).

осмос

Движение молекул воды через полупроницаемую мембрану за счет разности концентраций растворенного вещества с двух сторон мембраны. Мембрана должна быть проницаемой для воды, но не для молекул растворенного вещества (приложение 11.1, стр. 1022).

основание

Соединение, способное уменьшать количество протонов в растворе либо напрямую связывая ионы H^+ , либо высвобождая ионы OH^- , которые затем объединяются с H^+ с образованием H_2O . Пурины и пиримидины ДНК и РНК представляют собой органические азотсодержащие основания, и их часто называют просто основаниями (приложение 2.2, стр. 174–175).

основной (щелочной)

Обладающий свойствами основания.

остаточное тельце

У животных структура, образующаяся в конце деления и способная некоторое время удерживать вместе дочерние клетки (рис. 17.51).

остеобласт

Клетка, секретирующая матрикс кости (рис. 23.55), предшественник остеocyта.

остеокласт

Макрофаг-подобная клетка, разрушающая кость для того, чтобы она могла быть перестроена во время роста или в ответ на механические воздействия в течение жизни (рис. 23.59).

остеоцит

Неделяющаяся клетка кости, развивающаяся из остеобласта и встроенная в костный матрикс (рис. 23.55).

открытая рамка считывания (ОРС, ORF)

Непрерывная нуклеотидная последовательность, не несущая стоп-кодонов по крайней мере в одной из трех рамок считывания (и, следовательно, способная кодировать белок).

ОТ-ПЦР (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией)

Метод, в котором набор мРНК переводят в кДНК путем обратной транскрипции, а кДНК затем амплифицируют при помощи ПЦР.

отрицательная обратная связь

Механизм регуляции, при котором конечный выход реакции или пути ингибирует более ранний этап того же пути.

отстающая цепь (запаздывающая цепь)

Одна из двух новосинтезированных нитей ДНК в репликационной вилке. Отстающая цепь синтезируется в форме отдельных фрагментов, которые затем ковалентно сшиваются (рис. 5.7).

очищающий отбор

Естественный отбор, направленный на снижение дивергенции в генных последовательностях популяции путем удаления особей, несущих вредные мутации. Иногда этот тип отбора неправильно называют стабилизирующим.

палиндромная последовательность

Нуклеотидная последовательность, идентичная комплементарной цепи, если ее считать в том же направлении – например, GATC (рис. 8.31).

пара оснований

Два нуклеотида в молекуле ДНК или РНК, удерживающиеся вместе водородными связями. Например, G, спаренный с C, и A, спаренный с T или U.

паракринная сигнализация

Близкодействующая межклеточная сигнализация посредством секретируемых сигнальных молекул, влияющих на соседние клетки (рис. 15.4).

паралоги

Гены или белки, сходные по последовательности благодаря удвоению гена в предковом организме. *Сравни* ортологи (рис. 1.25).

партеногенез

Формирование новой особи из яйцеклетки без оплодотворения сперматозоидом.

пассивный транспорт (облегченная диффузия)

Транспорт растворенного вещества через мембраны против его концентрационного или электрохимического градиента за счет энергии, запасенной в этом градиенте (рис. 11.4).

патоген

Организм, клетка, вирус или прион, вызывающий болезнь.

паттерн-распознающий рецептор

Рецептор врожденной иммунной системы, распознающий патоген-ассоциированные молекулярные образы (паттерны) (РАМР) и запускающий ответ на них. Примерами РАМР могут служить углеводы клеточной стенки и белковые компоненты жгутиков бактерий, двухцепочечная РНК вирусов.

пектин

Смесь полисахаридов, обогащенных галактуроновой кислотой и формирующих сильно гидратированный матрикс, в который встроена целлюлоза клеточных стенок растений (рис. 19.79).

пентоза

Пятиуглеродный сахар.

пептид

Короткий полимер из аминокислот, соединенных пептидными связями.

пептидная связь

Химическая связь между карбоксильной группой одной аминокислоты и аминогруппой второй аминокислоты; особая форма амидной связи. В белках аминокислоты соединены друг с другом пептидными связями (приложение 3.1, стр. 194–195).

первичная клеточная стенка

Первая клеточная стенка, образующаяся в развивающейся растительной клетке; тонкая и гибкая, благодаря чему клетка может расти (рис. 19.79).

первичная опухоль

Опухоль в той области, где впервые возник рак. Вторичные опухоли развиваются в других частях организма в результате метастазов.

первичная ресничка

Короткая, неподвижная ресничка, лишенная динеина. Выходит из центриоли и выступает на поверхности многих типов животных клеток. В первичной ресничке концентрируются многие сигнальные белки (рис. 15.48).

первичная структура

Линейная последовательность мономерных единиц полимера, например, аминокислотная последовательность белка.

первичные половые клетки

Клетки зародыша, из которых развиваются гаметы (рис. 21.17, 21.23 и 21.30).

первичный иммунный ответ

Приобретенный иммунный ответ на антиген, происходящий при первом взаимодействии с антигеном (рис. 25.10).

первичный транскрипт (первичный транскрипт РНК)

Новосинтезированный транскрипт, не претерпевший сплайсинга и других модификаций (рис. 6.21).

передача сигнала (сигнальная трансдукция)

Преобразование сигнала из одной физической или химической формы в другую (например, преобразование света в химический сигнал или внеклеточных сигналов во внутриклеточные).

переключение классов

Переключение с синтеза одного класса иммуноглобулинов (например, IgM) на синтез другого класса (например, IgG), происходящее во многих В-клетках во время приобретенного иммунного ответа. Включает в себя перестройку ДНК, носящую название рекомбинации на этапе переключения (рис. 25.41).

перекрест

Крестообразное соединение между парами гомологичных хромосом при мейозе. Указывает на сайт хромосомного кроссинговера, разновидности генетической рекомбинации.

переносчик — смотри транспортер**переносчик электронов**

Молекула, например, цитохром *c*, NADH, NADPH или FADH₂, переносящая

электроны и передающая их от донорных молекул на акцепторные. *Смотри также* электрон-транспортная цепь, рис. 2.60.

переход от метафазы к анафазе

Контрольная точка в эукариотическом клеточном цикле, предшествующая расхождению сестринских хроматид в анафазе. Если клетка не готова перейти к анафазе, клеточный цикл останавливается в этой точке (рис. 17.14 и приложение 17.1, стр. 1648–1649).

переходное состояние

Структура, временно формирующаяся в процессе химической реакции и обладающая самой высокой свободной энергией из всех интермедиатов реакции. Его образование является стадией, лимитирующей скорость реакции (рис. 3.46).

периферический лимфоидный орган (вторичный лимфоидный орган)

Лимфоидный орган, в котором Т-клетки и В-клетки взаимодействуют с антигенами; например, селезенка, лимфатические узлы и лимфоидная ткань, ассоциированная со слизистыми оболочками (рис. 25.3).

пермеаза — *смотри* транспортер

пермиссивные (нерестриктивные) условия

Условия (например, температура или доступность питательных веществ), в которых фенотипическое влияние условной мутации не будет проявляться, то есть фенотип будет нормальным (рис. 8.55 и приложение 8.1, стр. 852–853).

пероксисома

Небольшая мембранная органелла, использующая молекулярный кислород для окисления органических молекул. Содержит некоторые ферменты, синтезирующие и деградирующие перекись водорода (H_2O_2) (рис. 12.30).

пиноцитоз

От греческого *pino* — пью, и *kytos* — клетка. Тип эндоцитоза, при котором растворимые вещества непрерывно захватываются из окружающей среды в маленьких везикулах и переносятся в эндосомы вместе с мембраносвязанными молекулами. *Сравни* фагоцитоз (рис. 13.48).

пиримидин

Азот-содержащее гетероциклическое соединение, встречающееся в ДНК или РНК: цитозин, тимин или урацил (приложение 2.6, стр. 182–183).

пируват (пировиноградная кислота) (CH_3COCO^-)

Конечный продукт гликолитического пути. Входит в митохондрии и участвует в цикле лимонной кислоты и других биосинтетических путях.

питающая клетка — *смотри* клетка-кормилица

плазматическая мембрана

Мембрана, окружающая живую клетку (рис. 10.1).

ПКС — *смотри* запрограммированная клеточная смерть

плазмида

Небольшая кольцевая внехромосомная молекула ДНК, реплицирующаяся независимо от генома. Модифицированные плазмиды широко используются как векторы клонирования ДНК.

плазмодесма

Растительный аналог щелевого соединения. Межклеточное коммуникативное соединение растений, в котором цитоплазматический канал, выстланный плазматической мембраной, соединяет две соседние клетки через небольшие поры в клеточных стенках.

пластида

Цитоплазматическая органелла растений, окруженная двойной мембраной и несущая собственную ДНК. Часто также несет пигменты. Хлоропласты являются пластидами.

плекстрин-гомологичный домен (РН-домен)

Белковый домен, встречающийся у некоторых внутриклеточных сигнальных белков. Некоторые РН-домены связывают фосфатидилинозитол-3,4,5-трисфосфат, синтезированный PI3-киназой, что приводит к сближению сигнального белка с плазматической мембраной при активации PI 3-киназы.

плоидность

Число полных гомологичных наборов хромосом в геноме. Диплоидные организмы в соматических клетках несут два набора; гаплоидные несут один набор; у полиплоидных организмов больше двух наборов.

плоскостная полярность клеток

Тип клеточной асимметрии, встречающийся в некоторых эпителиях; характеризуется тем, что вектор полярности каждой клетки ориентирован в плоскости эпителия (рис. 19.32).

плотное соединение

Межклеточное соединение между соседними эпителиальными клетками, препятствующее прохождению большинства растворенных молекул с одной стороны слоя эпителия в другую (рис. 19.3 и 19.26).

плюс-конец

Конец микротрубочки или актинового филамента, к которому присоединение мономеров происходит быстро. Плюс-конец актиновых филаментов также называют оперенным (приложение 16.2, стр. 1496–1497).

поверхностный плазмонный резонанс (ППР)

Физическое явление, позволяющее с высокой чувствительностью детектировать взаимодействие между находящимися в водном растворе потенциально связывающимися молекулами и поверхностью биодатчика, несущего закрепленный белок-«наживку». Широко используется для характеристики макромолекулярных взаимодействий, например, связывания антител с антигенами, лигандов с рецепторами или белков с ДНК.

позиционная информация

Информация, поступающая от или содержащаяся в клетках и зависящая от их положения в многоклеточном организме. Внутренняя запись позиционной информации в клетке носит название позиционного значения.

позиционный эффект (эффект положения)

Различия в экспрессии генов, обусловленные положением гена в хромосоме и, по-видимому, отражающие различия в состоянии хроматина вдоль хромосомы.

Когда активный ген расположен рядом с гетерохроматином, инактивирующее влияние гетерохроматина может в разной степени распространиться на ген, что приведет к *эффекту положения мозаичного типа* (рис. 4.36).

поли(А)-хвост — *смотри* полиаденилирование

полиаденилирование

Присоединение длинной последовательности нуклеотидов А (polyA) к 3'-концу новосинтезированной молекулы мРНК (рис. 6.21 и 6.38).

полигенный признак

Наследственный признак, на который влияет несколько генов, каждый из которых вносит небольшой вклад в фенотип.

полимер

Крупная молекула, синтезируемая путем ковалентного связывания многочисленных идентичных или похожих единиц (мономеров).

полимераза

Фермент, катализирующий реакции полимеризации, например, синтез ДНК или РНК. *Смотри также* ДНК-полимераза, РНК-полимераза.

полимеразная цепная реакция — *смотри* ПЦР

полиморфный

Описывает ген с двумя или более аллелями, сосуществующими в популяции и обладающими сопоставимыми частотами встречаемости.

полипептид

Линейный полимер из аминокислот, соединенных друг с другом пептидной связью. Белки — это большие полипептиды, и эти термины взаимозаменяемы (приложение 3.1, стр. 194–195).

полиплоидный

Клетка или организм, содержащие более двух наборов гомологичных хромосом.

полирибосома (полисома)

Молекула матричной РНК, к которой присоединены несколько синтезирующих белок рибосом (рис. 6.76).

полисахарид

Линейный или разветвленный полимер, состоящий из моносахаридов. К полисахаридам относятся гликоген, крахмал, гиалуроновая кислота и целлюлоза (приложение 2.4, стр. 178–179).

политенная хромосома

Огромная хромосома, в которой ДНК претерпела множественную репликацию и образовавшиеся копии не разошлись (рис. 4.58 и 4.59).

полицистронная мРНК

Одна молекула мРНК, кодирующая несколько различных белков. Часто встречается у бактерий, но не у эукариот (рис. 6.73).

половая хромосома

Хромосома, с наличием или отсутствием которой связан половой диморфизм

кариотипов. Она может присутствовать в организме в одной или нескольких копиях или отсутствовать. У млекопитающих половыми являются хромосомы X и Y.

положительная обратная связь

Механизм регуляции, в котором конечный продукт реакции или метаболического пути стимулирует свой собственный синтез или активацию.

полудесмосома

Специализированное прикрепительное клеточное соединение между эпителиальными клетками и базальной мембраной с участием промежуточных филаментов.

полярное тельце

Меньшая из двух дочерних клеток, образовавшихся во время мейоза путем асимметричного деления первичного или вторичного ооцита. Вторая (более крупная) дочерняя клетка является ооцитом или яйцеклеткой. Полярные тельца, в конце концов, погибают (рис. 21.23).

полярный

В отношении электрических свойств описывает структуру (например, химическую связь, группу или молекулу), у которой на одном конце сконцентрирован положительный заряд, а на другом — отрицательный. Это обычно приводит к неравномерному распределению электронов. Полярные молекулы обычно растворимы в воде (рис. 2.10 и приложение 2.2, стр. 174–175).

поперечнополосатая мышца

Мышца, состоящая из миофибрилл, на которых видны перпендикулярные к продольной оси миофибриллы полосы. Примерами являются сердечная и скелетные мышцы млекопитающих (рис. 16.74).

порин

Каналообразующие белки внешних мембран бактерий, митохондрий и хлоропластов.

последовательность RGD

Трипептидная последовательность (аргинин-глицин-аспарагиновая кислота), служащая сайтом связывания интегринов; присутствует в фибронектине и некоторых других внеклеточных белках (рис. 19.72, *в*).

посттранскрипционный контроль

Любой контроль экспрессии генов, происходящий после начала транскрипции. (рис. 7.92)

посттрансляционная модификация

Катализируемое ферментом изменение белка после его синтеза. К таким модификациям относятся ацетилирование, расщепление, гликозилирование, метилирование, фосфорилирование и пренилирование.

потенциал действия

Быстрое, кратковременное, самораспространяющееся электрическое возбуждение в плазматической мембране нейрона или мышечной клетки. Потенциалы действия, или нервные импульсы, делают возможной дальнедействующую сигнализацию в нервной системе (рис. 11.30).

потенциал-зависимый ионный канал

Тип ионных каналов, располагающийся в мембранах электрически возбудимых клеток (например, нейронов, яйцеклеток, эндокринных и мышечных клеток). Открывается в ответ на прохождение мембранным потенциалом порогового значения.

почкующиеся дрожжи

Тривиальное название пекарских дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, модельного экспериментального организма, делящегося за счет отпочковывания от материнской клетки более маленькой дочерней.

поясок сцепления – смотри адгезионный пояс**п. н.**

Пара нуклеотидов

праймаза – смотри ДНК-праймаза**праймер (затравка)**

Олигонуклеотид, спаривающийся с матричной цепью ДНК или РНК и с которого полимеразы начинают синтез комплементарной цепи.

пре-В-клетка

Предшественник В-клетки (рис. 25.22).

предел разрешения

В микроскопии наименьшее расстояние между двумя точечными объектами, на котором они видны по отдельности. В световой микроскопии составляет около 0.2 мкм и определяется длиной волны света.

преинициаторный комплекс

Мультибелковый комплекс, собирающийся в точке начала репликации в начале S-фазы эукариотического клеточного цикла. Иницирует синтез ДНК путем расплетания спирали ДНК и загрузки ДНК-полимераз и других ферментов репликации на цепи ДНК (рис. 17.23).

пре-мРНК

Предшественник матричной РНК. У эукариот включает в себя все промежуточные интермедиаты процессинга РНК.

пренилирование

Ковалентное присоединение к белку изопреноидной липидной группы (рис. 10.20).

препрофазный пучок

Кольцевой пучок микротрубочек и актиновых филаментов, формирующийся вокруг растительной клетки под плазматической мембраной перед митозом и клеточным делением (рис. 17.57).

перепликативный комплекс (pre-RC)

Мультибелковый комплекс, собирающийся в точках начала репликации в позднем митозе и ранней G₁-фазе клеточного цикла; необходим для разрешения сборки преинициаторного комплекса и последующей инициации репликации (рис. 17.22 и 17.23).

прикрепительный контакт

Клеточный контакт, служащий для прикрепления клеток друг к другу или к внеклеточному матриксу.

приобретенный (адаптивный) иммунный ответ

Клональный ответ иммунной системы позвоночных на специфический антиген. В норме приводит к формированию иммунологической памяти (рис. 25.1 и 25.2).

прион

Инфекционная, неправильно свернутая форма белка, реплицируемая в организме-хозяине за счет того, что прион заставляет другие белки своего типа принимать такую же неправильную структуру (рис. 6.95 и 6.96).

прионная болезнь

Заразная губчатая энцефалопатия, вызываемая и передающаяся инфекционным, неправильно свернутым белком (прионом). Например, куру или болезнь Кройцфельда-Якоба (БКЯ) у людей; почесуха (скрейпи) у овец; губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота («коровье бешенство») у коров (рис. 24.18).

прокариоты

Одноклеточные микроорганизмы, лишенные структурированного мембранного ядра. Бактерии и археи (рис. 1.21).

прокаспаза

Неактивный предшественник каспазы — протеолитического фермента, обычно участвующего в апоптозе (рис. 18.5).

промежуточный филамент

Волокнистый белковый филамент (~10 нм в диаметре), образующий в животных клетках канатоподобные сети. Один из трех наиболее распространенных типов филаментов цитоскелета. (приложение 16.1, стр. 1484)

прометафаза

Фаза митоза, предшествующая метафазе. В прометафазе разрушается ядерная оболочка и хромосомы прикрепляются к веретену деления (приложение 17.1, стр. 1648–1649).

промотор

Нуклеотидная последовательность в ДНК, с которой связывается РНК-полимераза для начала транскрипции. *Смотри также* индуцируемый промотор (рис. 7.44).

протеаза (протеиназа, протеолитический фермент)

Фермент, разрушающий белки путем гидролиза одной или нескольких пептидных связей между аминокислотными остатками.

протеинкиназа

Фермент, переносящий терминальную фосфатную группу АТФ на одну или несколько определенных аминокислот (серин, треонин или тирозин) белка-мишени.

протеинкиназа А (РКА) — *смотри* циклоАМР-зависимая протеинкиназа

протеинкиназа В — *смотри* Akt

протеинкиназа С (PKC)

Ca²⁺-зависимая протеинкиназа, которая при активации диацилглицерином и увеличении концентрации цитоплазматического Ca²⁺ фосфорилирует белки-мишени по определенным остаткам серина и треонина (рис. 15.39).

протеогликан

Молекула, состоящая из одной или нескольких гликозаминогликановых цепей, присоединенных к белку (рис. 19.58).

протеолиз

Деградация белка гидролизом по одной или нескольким пептидным связям.

протеолитический фермент — смотри протеаза**протеомика**

Изучение всех синтезированных клеткой, тканью или организмом белков, включая ковалентно модифицированные формы. Протеомика часто исследует изменения в таком наборе белков — «протеоме», — вызванные изменениями окружающей среды или внеклеточных сигналов.

протеасома

Крупный белковый комплекс в цитозоле, обладающий гидролитической активностью. Отвечает за расщепление белков, маркированных для разрушения убиквитинированием или каким-либо другим образом (рис. 6.89 и 6.90).

протисты (простейшие)

Одноклеточные эукариоты. Включают в себя протозоа (которых также называют простейшими), водоросли и дрожжи (рис. 1.41).

протозоа

Свободноживущие или паразитические, нефотосинтезирующие одноклеточные подвижные эукариотические организмы, например, *Paramecium* и *Amoeba*. Свободноживущие протозоа питаются бактериями или другими микроорганизмами. (рис. 1.41)

протон

Положительно заряженная субатомная частица, входящая в состав ядра атома. У водорода ядро состоит из единственного протона (H⁺) (рис. 2.1).

протондвижущая сила

Сила, налагаемая электрохимическим протонным градиентом и переносящая протоны через мембрану (рис. 14.13).

протоонкоген

Нормальный ген, обычно участвующий в контроле пролиферации клеток, мутация которого может привести к его превращению в онкоген. (рис. 20.34)

профаза

Первая стадия митоза, во время которой хромосомы конденсируются, но еще не прикрепляются к веретену деления.

процессивный

О ферменте: способный двигаться по полимерной цепи, не отделяясь от нее и катализируя одну и ту же реакцию.

процессинг РНК

Широкий термин, охватывающий различные модификации, претерпеваемые РНК по мере ее созревания. К процессингу относятся 5'-кэпирование, 3'-полиаденилирование, 3'-расщепление, сплайсинг и редактирование.

псевдоген

Нуклеотидная последовательность ДНК, накопившая множественные мутации, сделавшие предковый ген неактивным и нефункциональным.

псевдоподия

Крупный, толстый вырост, образующийся на амебных клетках во время ползания. В общем случае, любой вырост поверхности животной клетки, обладающий сходной формой и обогащенный актином. *Сравни* филоподия, ламеллоподия (рис. 16.94).

пузырек — смотри везикула**пурин**

Азот-содержащее гетероциклическое соединение, встречающееся в ДНК или РНК: аденин или гуанин (приложение 2.6, стр. 182–183).

ПЦР (полимеразная цепная реакция)

Метод амплификации определенных участков ДНК с использованием специфичных праймеров и множественных циклов синтеза ДНК. За каждым циклом следует короткий этап повышения температуры для разделения комплементарных цепей (рис. 8.45).

пэтч-кламп (метод локальной фиксации потенциала)

Электрофизиологический метод, в котором очень маленький кончик электрода присасывается к участку мембраны, что позволяет записывать электрические токи отдельных ионных каналов на участке (рис. 11.33).

радиоавтография

Метод, при котором радиоактивный объект отпечатывается на фотографической пленке или эмульсии.

развитие опухоли

Процесс, в результате которого исходное контролируемое деление клеток постепенно приводит к развитию злокачественной опухоли (рис. 20.27).

рак

Заболевание, при котором происходит патологическое и неправильно контролируемое деление клеток, приводящее к инвазивным новообразованиям, или опухолям, способным распространиться по всему организму (рис. 20.37).

рамка считывания

Фаза, в которой считываются тройки нуклеотидов для кодирования белка. Молекула мРНК может считываться в любой из трех рамок считывания, но только одна из них соответствует нужному белку (рис. 6.51).

растворенное вещество

Любая молекула, растворенная в жидкости. Жидкость называется растворителем.

растительный гормон — смотри регулятор роста растений

реакция дегидратации — *смотри* реакция конденсации

реакция конденсации (реакция дегидратации)

Химическая реакция, в результате которой две молекулы ковалентно связываются через группы $-\text{OH}$ с выделением молекулы воды.

реакция несвернутых белков

Клеточный ответ, запускаемый накоплением неправильно свернутых белков в эндоплазматическом ретикулуме. Включает в себя усиление транскрипции шаперонов ЭР и ферментов деградации (рис. 12.55).

реакция фиксации углерода

Процесс, при котором неорганический углерод (в форме атмосферного CO_2) встраивается в органические молекулы. Второй этап фотосинтеза (рис. 14.39).

регулятор роста растений (растительный гормон)

Сигнальная молекула, координирующая рост и развитие. К растительным гормонам относятся этилен, ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизовая кислота и brassinosteroids.

регулятор сигнализации G-белков (RGS)

Белок GAP, связывающий тримерный G-белок и усиливающий его GTPазную активность, то есть способствующий ограничению опосредованной G-белками сигнализации (рис. 15.19).

регуляторная область гена

Набор связанных последовательностей ДНК, регулирующих экспрессию определенного гена. Включает в себя промотор и регуляторные последовательности, необходимые для транскрипции гена и контроля за скоростью инициации [рис. 7.37 (прокариоты) и 7.44 (эукариоты)].

регуляторная последовательность

Последовательность ДНК, с которой связывается транскрипционный фактор (один или несколько), контролирующей скорость сборки транскрипционного комплекса на промоторе (рис. 7.44).

регуляционный

В случае зародышей и их частей: саморегулируемый, то есть развивающийся в нормальную структуру даже при отклонении начальных условий.

регуляция активности белков

Селективная активация, инактивация, деградация или компартментализация определенных белков после их синтеза. Один из способов обеспечения того, чтобы белки действовали в определенное время и в определенном месте.

редактирование РНК

Тип процессинга РНК, изменяющий путем встраивания, удаления или изменения отдельных нуклеотидов нуклеотидную последовательность транскрипта пре-мРНК после его синтеза.

редокс-пара — *смотри* окислительно-восстановительная пара

редокс-потенциал — *смотри* окислительно-восстановительный потенциал

редокс-реакция — *смотри* окислительно-восстановительная реакция

резидентный белок ЭР

Белок, остающийся и выполняющий свои функции в эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) или его мембранах, в противовес белкам, находящимся в ЭР только временно.

резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET)

Метод наблюдения за тем, как близко расположены (и взаимодействуют ли) две флуоресцентно меченые молекулы в клетке (рис. 8.26).

рекомбинантная ДНК

Любая молекула ДНК, созданная путем соединения фрагментов ДНК из разных источников.

рекомбинация (генетическая рекомбинация)

Процесс, при котором молекулы ДНК разделяются на фрагменты и заново соединяются в новых комбинациях. Может протекать естественно в живых клетках: например, при кроссинговере во время мейоза. *In vitro* очищенную ДНК подвергают воздействию ферментов, расщепляющих и сшивающих нити ДНК. Существует три больших класса рекомбинаций: гомологичная (общая) рекомбинация, консервативная сайт-специфическая рекомбинация и транспозиции.

рентгеновская кристаллография (рентгеновская дифракция, рентгеноструктурный анализ)

Метод определения трехмерного расположения атомов в молекуле, основанный на картине дифракции рентгеновских лучей, проходящих через кристаллизованную молекулу (рис. 8.28).

репарация неспаренных оснований

Процесс репарации ДНК, устраняющий встроенные во время репликации ДНК неспаренные нуклеотиды. Короткий участок новосинтезированной ДНК, включающий неспаренный нуклеотид, вырезается, и на его место встраивается правильная последовательность, соответствующая нити-шаблону.

репликативное старение клеток

Явление, наблюдаемое в первичных клеточных культурах и характеризующееся замедлением, а затем необратимой остановкой, пролиферации. *Смотри также* старение

репликационная вилка (репликативная вилка)

Область молекулы ДНК в форме буквы Y, в которой произошло разделение цепей ДНК и идет синтез дочерних цепей (рис. 5.7 и 5.19).

репликация ДНК

Процесс синтеза копии молекулы ДНК.

репортерный ген

Генетическая конструкция, обычно искусственно созданная, в которой копия регуляторной ДНК интересующего гена связана с последовательностью, кодирующей легко идентифицируемый продукт. Наличие или отсутствие этого продукта (репортерного белка) в клетке, несущей репортерный ген, говорит о том, активен или неактивен интересующий ген (рис. 8.70).

репрессор (белок-репрессор гена, репрессор транскрипции)

Белок, связывающий определенную последовательность ДНК и блокирующий транскрипцию прилегающего гена.

реснитчатые

Одноклеточные эукариотические организмы (простейшие), характеризующиеся расположенными на их поверхности многочисленными ресничками.

ресничка

Похожий на волосок вырост эукариотической клетки, в центре которого располагается пучок микротрубочек. Многие клетки несут единственную неподвижную ресничку, тогда как существуют клетки, покрыты ресничками, совершающими регулярные биения. *Сравни* жгутик.

рестриктаза — смотри нуклеаза рестрикции**рестриктивные (непермиссивные) условия**

Условия (например, температура или доступность питательных веществ), при которых влияние условной мутации будет проявляться в фенотипе (рис. 8.55, и приложение 8.1, стр. 852–853).

рестрикционная карта — смотри карта рестрикции**рестрикционные фрагменты**

Фрагменты ДНК, образовавшиеся после обработки ДНК рестрикционными ферментами.

ретровирус

РНК-содержащий вирус, реплицирующийся в клетке путем образования промежуточного комплекса РНК-ДНК, а затем двунитевой молекулы ДНК, встраиваемой в ДНК клетки-хозяина (рис. 5.71).

ретротранспозон

Тип мобильных генетических элементов. Перемещаются путем транскрипции в РНК, последующего перевода обратно в ДНК обратной транскриптазой и встраивания («ретро-транспозиции») в геном. Существует два типа: ретротранспозоны с длинными концевыми повторами (LTR), или ретровирус-подобные, и ретротранспозоны без длинных концевых повторов.

рецептор

Любой белок, связывающий определенную сигнальную молекулу (лиганд) и инициирующий ответ клетки. Некоторые располагаются на поверхности клетки, некоторые — внутри нее (рис. 15.3).

рецептор Erb (рецептор эфринов)

Наиболее распространенный тип рецепторных тирозинкиназ (RTK), узнающий эфрины (рис. 15.52).

рецептор смерти

Трансмембранный рецепторный белок, при связывании внеклеточного лиганда передающий в клетку сигнал о запуске апоптоза (рис. 18.6).

рецептор ядерного транспорта (кариоферин)

Белок, сопровождающий белки на пути в ядро или из ядра; кариоферины

подразделяют на рецепторы ядерного импорта и рецепторы ядерного экспорта (рис. 12.15).

рецептор, связанный с гистидинкиназой

Трансмембранный рецептор плазматической мембраны бактерий, дрожжей и растений, участвующий, например, в реакции чувствительности к стимулам, вызывающим бактериальный хемотаксис. С цитоплазматической стороны связан с гистидиновой протеинкиназой.

рецептор, сопряженный с G-белком (GPCR)

Семипроходный поверхностный рецептор, который при активации внеклеточным лигандом активирует G-белок. G-белок, в свою очередь, активирует в плазматической мембране фермент или ионный канал (рис. 15.16 и 15.30).

рецептор, сопряженный с ионным каналом — смотри медиатор-зависимый ионный канал

рецептор, сопряженный с ферментом

Важный тип поверхностных рецепторов, чей цитоплазматический домен либо обладает ферментативной активностью, либо связан с внутриклеточным ферментом. В любом случае, ферментативная активность стимулируется связыванием с рецептором внеклеточного лиганда (рис. 15.16).

рецептор эфринов — смотри рецептор Eph

рецепторная серин-треониновая киназа

Поверхностный рецептор, несущий внеклеточный лиганд-связывающий домен и внутриклеточный киназный домен, фосфорилирующий сигнальные белки по остаткам серина и треонина в ответ на связывание лиганда. Примером является рецептор TGF β (рис. 15.69).

рецепторная тирозинкиназа (RTK)

Поверхностный рецептор, несущий внеклеточный лиганд-связывающий домен и внутриклеточный киназный домен, фосфорилирующий сигнальные белки по остаткам тирозина в ответ на связывание лиганда (рис. 15.52 и табл. 15.4, стр. 1418).

рецептор-опосредованный эндоцитоз

Интернализация путем эндоцитоза расположенных в плазматической мембране комплексов рецептор-лиганд (рис. 13.53).

рецессивный аллель

В генетике один из пары аллелей, который не проявляется в фенотипе организма в присутствии доминантной аллели. Также относится к фенотипу особи, несущей только рецессивные аллели (приложение 8.1, стр. 852–853).

рециркулирующая эндосома

Крупная мембранная везикула, образующаяся из фрагмента эндосомы.; промежуточная стадия на пути рециркулирующих рецепторов, возвращающихся в клеточную мембрану (рис. 13.60).

рибоза

Пятиуглеродный моносахарид, входящий в состав РНК. C₅H₁₀O₅. Сравни дезоксирибоза.

рибозим

РНК, обладающая каталитической активностью.

рибонуклеаза

Фермент, расщепляющий молекулу РНК путем гидролиза одной или нескольких ее фосфодиэфирных связей.

рибонуклеиновая кислота — *смотри* РНК**рибосома**

Органелла клетки, состоящая из рРНК и рибосомных белков и катализирующая синтез белков на основании информации, «записанной» в нуклеотидной последовательности мРНК (рис. 1.10).

рибосомная РНК (рРНК)

Молекулы РНК, входящие в состав рибосом и участвующие в синтезе белков. Их часто классифицируют по коэффициенту седиментации (например, 28S рРНК, 5S рРНК).

РНК (рибонуклеиновая кислота)

Полимер, образующийся из ковалентно связанных рибонуклеотидных мономеров. *Смотри также* матричная РНК, рибосомная РНК, транспортная РНК (табл. 6.1, стр. 336, и приложение 2.6, стр. 182–183).

РНК-затравка — *смотри* РНК-праймер**РНК-интерференция (РНКи, РНКi)**

Впервые была описана как механизм, посредством которого искусственно введенная двунитовая РНК вызывает специфическое разрушение комплементарных мРНК. Высококонсервативный для эукариот механизм опосредуется короткими двуцепочечными малыми (короткими) интерферирующими РНК (siРНК), образующимися в результате эндонуклеазного расщепления. Термин РНКи часто используется в более широком смысле и включает в себя ингибирование экспрессии генов микроРНК (miРНК), которые закодированы в геноме самой клетки. РНК-интерференция широко используется для изучения биологической роли определенных генов (рис. 7.115).

РНК-полимераза

Фермент, катализирующий синтез из рибонуклеозидтрифосфатов молекулы РНК на матричной нити ДНК (рис. 6.8).

РНК-праймер (РНК-затравка)

Короткая последовательность РНК, синтезируемая на матричной нити ДНК. Необходима ДНК-полимеразе для начала синтеза ДНК.

родопсин

Семипроходный мембранный белок семейства GPCR, служащий сенсором света в фоторецепторных клетках палочках в сетчатке позвоночных. Содержит светочувствительную простетическую группу ретинол (рис. 15.49).

рРНК — *смотри* рибосомная РНК**сайт связывания (участок связывания)**

Область на поверхности молекулы (обычно белка или нуклеиновой кислоты), способная взаимодействовать с другой молекулой за счет нековалентного связывания.

сайт-специфическая рекомбинация

Тип рекомбинации, происходящий в определенных последовательностях ДНК и опосредуемый белками, узнающими эти последовательности. Может происходить между двумя разными молекулами ДНК или в пределах одной молекулы ДНК.

сайт-специфический мутагенез (сайт-направленный мутагенез)

Метод, при помощи которого можно ввести мутацию в определенный участок (сайт) ДНК.

саркома

Рак соединительной ткани.

саркомер

Повторяющаяся единица миофибрилл в мышечной клетке, представляющая собой перекрывающиеся толстые (миозиновые) и тонкие (актиновые) филаменты, расположенные между двумя Z-дисками.

саркоплазматический ретикулум

Специализированный тип эндоплазматического ретикулума цитоплазмы мышечных клеток, содержащий высокую концентрацию Ca^{2+} . Этот Ca^{2+} высвобождается в цитозоль при возбуждении мышц (рис. 16.77).

сателлитная ДНК

Обогащенный повторами участок ДНК эукариотической хромосомы, идентифицируемый по его необычному нуклеотидному составу. Обычно встречается в центромерах (и других участках ДНК) высших эукариот и, по-видимому, играет роль в функционировании центромер (рис. 4.49).

Саузерн-блоттинг

Метод, в котором разделенные электрофорезом фрагменты ДНК иммобилизуют на нитроцеллюлозной или нейлоновой мембране. Затем нужные последовательности отбирают при помощи меченого ДНК-зонда. (Назван в честь Э.М. Саузерна, изобретателя метода.)

сахар

Сахарами обычно называют моносахариды — углеводы с общей формулой $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O})_n$. Это глюкоза, фруктоза, манноза и другие моносахариды, а также сахаром иногда, особенно в быту, называют дисахарид сахарозу (состоит из глюкозы и фруктозы) (приложение 2.4, стр. 178–179).

сахароза

Дисахарид, состоящей из одного остатка глюкозы и одного остатка фруктозы. Основная форма, в которой глюкоза транспортируется между растительными клетками. (приложение 2.4, стр. 178–179).

светлопольный микроскоп

Обычный световой микроскоп, в котором изображение получается путем простого пропускания света через наблюдаемый объект.

свободная рибосома

Рибосома, расположенная в цитозоле и не прикрепленная к мембране.

свободная энергия (G) (свободная энергия Гиббса)

Энергия, которую можно извлечь из системы для обеспечения протекания реакций. Учитывает изменения энергии и энтропии (приложение 2.7, стр. 184–185).

свободный радикал

Атом или молекула, обладающие высокой реакционной способностью за счет наличия у них одного и более неспаренных электронов. Являются причиной внутриклеточного повреждения ДНК.

секвенирование

Определение последовательности нуклеотидов или аминокислот в молекулах нуклеиновых кислот или белков (рис. 8.50).

секреторная везикула (секреторный пузырь)

Окруженная мембраной органелла, в которой хранятся секретируемые молекулы до их высвобождения. Иногда используют термин секреторная гранула, поскольку благодаря хорошо окрашиваемому содержимому в микроскоп органелла кажется небольшим твердым объектом (рис. 13.63 и 13.66).

секурин

Белок, связывающий протеазу сепаразу и не дающий ей расщеплять связи между белками, удерживающими сестринские хроматиды в раннем митозе. Секурин разрушается при переходе от метафазы к анафазе (рис. 17.44).

селективный фильтр

Часть ионного канала, определяющая, какие ионы он транспортирует (рис. 11.23 и 11.24).

селектин

Представитель семейства углеводов-связывающих белков, которые локализируются на клеточной поверхности и опосредуют временную Ca^{2+} -зависимую межклеточную адгезию в кровяном русле, например, между белыми клетками крови и эндотелием стенки кровеносных сосудов. (рис. 19.19)

селектируемый маркерный ген

Ген, включаемый в искусственную ДНК для определения ее наличия в клетке. Позволяет отбирать клетки, в которых целевая ДНК присутствует.

семейство Bcl2

Семейство внутриклеточных белков, активирующих или ингибирующих апоптоз путем регуляции высвобождения цитохрома *c* и других митохондриальных белков из межмембранного пространства в цитозоль.

семейство Toll-подобных рецепторов (TLR)

Важное семейство паттерн-распознающих рецепторов, в большом количестве содержащихся внутри или на поверхности клеток врожденной иммунной системы. Они узнают связанные с патогенами эволюционно консервативные молекулярные структуры, например, липополисахариды и пептидогликаны (рис. 24.51).

семейство ингибиторов апоптоза (IAP)

Внутриклеточные белки-ингибиторы апоптоза.

семейство трансформирующего фактора роста- β – смотри суперсемейство TGF β

семя

У растений структура, содержащая покоящийся зародыш и запас питательных веществ. Окружено защитной оболочкой (приложение 22.1, стр. 2144).

сепараза

Протеаза, расщепляющая когезиновые белковые мостики, удерживающие вместе сестринские хроматиды. Действует в анафазе, способствуя разделению и расхождению хроматид (рис. 17.44).

септированные соединения

Основной тип запирающих соединений беспозвоночных; их структура отличается от плотных соединений позвоночных (рис. 19.28).

сердечная мышца

Специализированная форма поперечнополосатых мышц, расположенная в сердце и состоящая из отдельных клеток сердечной мышцы, связанных посредством межклеточных контактов.

сериновая протеаза

Класс протеаз, в каталитический сайт которых входит серин (рис. 3.12 и 3.38).

серин-треониновая киназа

Фермент, фосфорилирующий определенные белки по остаткам серина и треонина (рис. 15.70).

сестринские хроматиды

Крепко связанные пары хромосом, возникающие в результате удвоения хромосом в S-фазе. Они разделяются в M-фазе и расходятся по разным дочерним клеткам (рис. 17.26).

сигнал начала переноса (сигнал старта переноса)

Короткая аминокислотная последовательность, позволяющая полипептидной цепи начать транслоцироваться через мембрану эндоплазматического ретикулама через мембранный транслокатор. Многопроходные мембранные белки несут N-концевую сигнальную последовательность и внутренние сигналы начала переноса (рис. 12.45-12.48).

сигнал сортировки

Аминокислотная последовательность, направляющая доставку белка в определенное место клетки, например, во внутриклеточный компартмент.

сигнал удержания в ЭР

Короткая аминокислотная последовательность белка, не дающая ему покинуть эндоплазматический ретикулум (ЭР). Встречается у резидентных белков ЭР.

сигнал ядерного экспорта

Сигнал сортировки, содержащийся в структуре молекул и комплексов, например, РНК и новых рибосомных субчастиц, транспортируемых из ядра в цитозоль через ядерные поровые комплексы (рис. 12.15).

сигнал ядерной локализации (NLS)

Сигнальная последовательность или сигнальный участок белков, предназначенных для транспорта в ядро. Обеспечивает селективный транспорт несущих его белков из цитозоля в ядро через ядерные поровые комплексы (рис. 12.11 и 12.15).

сигнал-узнающая частица (SRP)

Рибонуклеопротеиновая частица, связывающая сигнальную последовательность

ЭР на частично синтезированной полипептидной цепи и направляющая полипептид и связанную с ним рибосому в ЭР (рис. 12.39).

сигнальная молекула

Внеклеточное химическое соединение, синтезированное клеткой для того, чтобы сигнализировать другим клеткам организма о необходимости изменения поведения (рис. 15.1).

сигнальная пептидаза

Фермент, удаляющий терминальную сигнальную последовательность с белка после завершения процесса сортировки (рис. 12.25).

сигнальная последовательность

Короткая непрерывная аминокислотная последовательность, определяющая конечную локализацию белка в клетке. Например, N-концевая последовательность длиной около 20 аминокислот, направляющая новосинтезированные секреторные и трансмембранные белки в эндоплазматический ретикулум. (табл. 12.3, стр. 702)

сигнальная последовательность ЭР

N-концевая сигнальная последовательность, направляющая белок в эндоплазматический ретикулум (ЭР). Отрезается сигнальной пептидазой после входа белка в ЭР.

сигнальная трансдукция — смотри передача сигнала

сигнальный каскад

Последовательность связанных внутриклеточных реакций, запускаемая активированным поверхностным рецептором. Обычно в каскад входят многочисленные этапы усиления передачи сигнала.

сигнальный путь JAK-STAT

Сигнальный путь, активируемый цитокинами и некоторыми гормонами. Позволяет быстро передать сигнал от плазматической мембраны в ядро, где происходит изменение транскрипции генов. В нем участвуют янус-киназы (JAK), переносчики сигнала и активаторы транскрипции (STAT).

сигнальный путь Wnt

Сигнальный путь, активируемый связыванием белка Wnt с его поверхностными рецепторами. Путь имеет несколько ветвей. В основной (канонической) ветви активация приводит к увеличению количества входящего в ядро β-катенина, регулирующего транскрипцию генов дифференцировки и пролиферации. Слишком сильная активация пути Wnt/β-катенин может привести к раку (рис. 15.77).

сигнальный участок

Сигнал сортировки белков, который представлен специфической трехмерной структурой на поверхности свернутого белка (рис. 13.45).

симбиоз

Взаимодействие между двумя организмами разных видов, благодаря которому они приобретают долговременное преимущество при естественном отборе (рис. 1.16).

симпорт (котранспортер)

Белок-переносчик, транспортирующий через мембрану в одном направлении два разных типа молекул растворенного вещества (рис. 11.8).

синапс

Коммуникационное межклеточное соединение, позволяющее передачу сигнала от нервных клеток другим клеткам. В химическом синапсе сигнал переносится диффундирующим нейромедиатором (рис. 19.22). В электрическом синапсе между цитоплазмами двух клеток существует прямая связь через щелевые контакты (рис. 19.34).

синапсис

(1) В генетической рекомбинации формирование пар оснований между комплементарными нитями ДНК разных молекул ДНК, происходящее в сайтах кроссинговера между хромосомами. (рис. 5.56) (2) В мейозе образование синаптонемного комплекса между двумя расположенными рядом гомологичными хромосомами (рис. 21.9).

синаптический пузырек

Небольшой заполненный нейромедиатором секреторный пузырек окончаний аксонов нервных клеток. Его содержимое высвобождается в синаптическую щель, когда потенциал действия достигает терминали аксона.

синаптонемный комплекс

Структура, удерживающая спаренные гомологичные хромосомы в пахитене профазы I мейоза и способствующая кроссинговеру (рис. 21.8 и 21.9).

синтения

Наличие в разных видах областей хромосом, несущих одинаковые гены в одинаковом порядке.

синтетическая леталь

Взаимодействие между двумя мутантными генами, при котором наличие обоих генов приводит к клеточной смерти, но по отдельности мутации не летальны.

синцитий

Цитоплазма, содержащая множество ядер и окруженная единственной плазматической мембраной. Обычно является результатом слияния клеток или незавершенных циклов деления, при которых ядра делятся, а клетка — нет.

система комплемента

Система сывороточных белков, активируемая комплексами антиген-антитело и микроорганизмами. Способствует уничтожению патогенных микроорганизмов, напрямую вызывая их лизис или способствуя их фагоцитозу.

система контроля клеточного цикла

Сеть регуляторных белков, управляющая прохождением эукариотической клеткой клеточного цикла.

система секреции типа III

Бактериальная система доставки токсичных белков в клетки хозяина (рис. 24.8).

сканирующий электронный микроскоп

Тип электронного микроскопа, дающий изображение поверхности объекта.

скользящий зажим (скользящая застежка)

Белковый комплекс, удерживающий ДНК-полимеразу на ДНК в процессе репликации (рис. 5.18).

скэффолд-белок – *смотри* каркасный белок

сложный признак

Наследуемая характеристика, передача которой потомству не подчиняется простым законам Менделя. Такие признаки являются результатом взаимодействия многих генов и/или взаимодействия гена со средой.

слуховые волосковые клетки (чувствительные волосковые клетки)

Чувствительные клетки внутреннего уха, отвечающие за регистрацию звука путем преобразования механического стимула (колебаний, вызванных звуковыми волнами) в высвобождение нейромедиатора (рис. 23.13 и 23.15).

соединительная ткань

Любая поддерживающая ткань, лежащая между другими тканями и состоящая из клеток, погруженных в относительно большое количество внеклеточного матрикса. К соединительным тканям относятся кости, хрящ и рыхлая соединительная ткань.

сократительное кольцо (сократимое кольцо)

Кольцо, содержащее актин и миозин и образующееся под поверхностью претерпевающей деление животной клетки. Его сокращение приводит к разделению двух дочерних клеток (рис. 17.50).

соматическое гипермутирование

Накопление точечных мутаций в кодирующих вариабельные участки последовательностей генов иммуноглобулинов, происходящее при активации В-клеток для формирования клеток памяти. Приводит к образованию антител с измененными сайтами связывания антигенов.

соматическая клетка

Любая клетка животного или растения, за исключением клеток зародышевой линии. От греческого *soma* – тело.

сомит

Один из набора спаренных блоков мезодермы, образующихся в процессе раннего развития и лежащих с двух сторон от хорды в зародышах позвоночных. Из них развиваются сегменты оси тела, включая позвонки, мышцы и связанные с ними соединительные ткани (рис. 22.81).

сопряженный транспорт – *смотри* котранспорт

сопряженная реакция

Пара химических реакций, при которых высвобожденная в результате протекания первой реакции свободная энергия служит движущей силой протекания второй реакции.

спаривание гомологов

В мейозе: выстраивание двух гомологичных хромосом вдоль друг друга (рис. 21.6).

спектрин

Широко распространенный белок, связанный с цитоплазматической поверхностью плазматической мембраны в красных клетках крови и образующий поддерживающую мембрану сеть. Также встречается в других типах клеток (рис. 10.41).

сперматогенез

Развитие сперматозоидов (рис. 21.30).

сперматозоид

Зрелая мужская гамета животных. Подвижна и обычно мала по сравнению с яйцеклеткой (рис. 21.27).

специфическая соматическая рекомбинация (V(D)J рекомбинация)

Процесс соматической рекомбинации, посредством которого фрагменты генов сближаются с образованием функционального гена полипептидной цепи иммуноглобулина или рецептора Т-клеток (рис. 25.36, 25.37 и 25.38).

спираль-поворот-спираль

ДНК-связывающий структурный мотив, свойственный многим белкам-регуляторам генов. Состоит из двух α -спиралей, соединенных под постоянным углом короткой аминокислотной последовательностью, образующей виток. Несущие такой мотив белки часто формируют симметричные димеры и связывают симметричные последовательности ДНК, организованные сходным образом. Отличается от мотива спираль-петля-спираль (рис. 7.10, 7.11 и 7.12).

спираль-петля-спираль (HLH)

ДНК-связывающий структурный мотив, свойственный многим белкам-регуляторам генов. Состоит из короткой α -спирали, связанной посредством гибкой петли со второй, более длинной α -спиралью. Эта структура позволяет двум HLH-содержащим белкам димеризоваться с образованием комплекса, связывающего ДНК. Отличается от мотива спираль-виток-спираль (рис. 7.23).

сплайсинг

Удаление интронов из транскрипта пре-мРНК путем сшивания экзонов, лежащих по обеим сторонам от интрона. *Смотри также* альтернативный сплайсинг РНК и транс-сплайсинг.

сплайсинг РНК

Процесс, в котором в ядре при созревании матричной и других РНК из РНК-транскриптов вырезаются интронные последовательности.

сплайсосома

Крупный комплекс молекул РНК и белков, производящий в эукариотических клетках сплайсинг пре-мРНК (рис. 6.29 и 6.30).

старение

(1) изнашивание организма. (2) Репликативное старение клеток: явление, наблюдаемое, в первую очередь, в клеточных культурах, в которых пролиферация клеток замедляется и, в конце концов, полностью останавливается.

старение клеток — *смотри* репликативное старение клеток**Старт (контрольная точка Старт, точка рестрикции)**

Важная контрольная точка в конце G_1 -фазы эукариотического клеточного цикла. Прохождение Старта означает вхождение клетки в S-фазу. Исходно термин использовался для контрольной точки клеточного цикла дрожжей, соответствующая точка клеточного цикла млекопитающих называлась точкой рестрикции. В данной книге мы используем термин «Старт» в обоих случаях (рис. 17.14).

стволовая клетка

Недифференцированная клетка, способная бесконечно делиться с образованием дочерних клеток, которые могут или претерпевать дифференцировку или оставаться стволовыми клетками (в процессе самообновления) (рис. 23.5).

стереоцилии (единственное число стереоцилия)

Крупные, жесткие микроворсинки, ступенчато располагающиеся на апикальной поверхности волосковых клеток уха. Стереоцилия несет пучок актиновых филаментов, а не микротрубочек, и, таким образом, не является настоящей ресничкой (т. е. цилией) (рис. 23.13 и 23.15).

стероид

Гидрофобная молекула с характерной, состоящей из четырех циклов, структурой; производное холестерина. Многие важные гормоны, включая кортизол, эстроген и тестостерон, представляют собой стероиды, активирующие внутриклеточные ядерные рецепторы (приложение 2.5, стр. 180–181).

стимулирующий G-белок (G_s)

G-белок, при своей активации активирующий фермент аденилатциклазу и, таким образом, стимулирующий образование циклического АМФ. (Смотри также G-белок и таблицу 15.3, стр. 1412.)

стимулирующий анафазу комплекс (APC/C, циклосома)

Убиквитин-лигаза, катализирующая убиквитинирование и разрушение секурина и M- и S-циклинов и запускающая расхождение сестринских хроматид в митозе при переходе от метафазы к анафазе.

стоп-сигнал переноса (сигнал остановки переноса)

Гидрофобная аминокислотная последовательность, останавливающая трансляцию полипептидной цепи через мембрану эндоплазматического ретикулума, закорячивая белок в мембране (рис. 12.48 и 12.49)

стохастический

Случайный. Связанный с вероятностью или случайными переменными.

строма

(1) Опорная структура, поддерживающая ткань или клетку, обычно состоит из соединительной ткани. Стромальные клетки обеспечивают благоприятные условия для развития других клеток ткани, в том числе опухолевых (рис. 20.19). (2) Большое внутреннее пространство хлоропласта, содержащее ферменты, встраивающие CO_2 в сахара (рис. 12.21).

структура Холлидея

Крестообразная структура, наблюдаемая в претерпевающей рекомбинацию ДНК: две молекулы ДНК удерживаются вместе в сайте кроссинговера (рис. 5.61). Этот процесс также иногда называют обменом с перекрещиванием цепей.

структурный ген

Область ДНК, кодирующая белок или молекулу РНК, образующие часть структуры или обладающие ферментативной активностью. Их отличают от областей ДНК, регулирующих экспрессию генов.

субстрат

(1) Молекула, на которую воздействует фермент. (2) Твердая поверхность, на

которой происходит адгезия клеток. (3) Место обитания и развития организмов — например, субстратом называют клетки, в которых реплицируется вирус.

субъединица белка

Отдельная полипептидная цепь в белке, состоящем из нескольких цепей.

сульфгидрильная группа (тиоловая группа, -SH)

Химическая группа, содержащая серу и водород; встречается в аминокислоте цистеине и других молекулах. Две сульфгидрильные группы могут образовать дисульфидную связь (приложение 2.1, стр. 172–173, и рис. 3.28).

суперсемейство Ras

Крупное суперсемейство мономерных GTPаз (также известных как малые GTP-связывающие белки), первым идентифицированным представителем которого был белок Ras (табл. 15.5, стр. 926).

суперсемейство TGF β (суперсемейство трансформирующего фактора роста- β)

Крупное семейство структурно похожих секретируемых белков, у животных служащих гормонами и локальными медиаторами в регуляции широко спектра функций, включая процессы развития. Включает в себя подсемейства TGF β /активина и костного морфогенетического белка (BMP) (рис. 15.69).

суперсемейство иммуноглобулинов

Большое и разнообразное семейство белков, содержащих иммуноглобулиновые или иммуноглобулин-подобные домены. Большинство представителей участвует в межклеточных взаимодействиях или распознавании антигенов (рис. 25.74).

суперсемейство ядерных рецепторов

Внутриклеточные рецепторы гидрофобных сигнальных молекул, например, стероидных гормонов, гормонов щитовидной железы и ретиноевой кислоты. Комплексы рецептор-лиганд служат в ядре факторами транскрипции (рис. 15.14).

суперспираль (суперскрученная спираль, coiled-coil)

Очень устойчивая палочковидная белковая структура, образованная двумя и более α -спиралями, обернутыми вокруг друг друга (рис. 3.9).

супрессорная мутация

Мутация, подавляющая фенотипическое влияние другой мутации таким образом, что мутантная особь кажется нормальной (приложение 8.1, стр. 852–853).

сфинголипид

Фосфолипид, производное сфингозина (рис. 10.3).

тандемная аффинная очистка (tap-tagging)

Высокоэффективный метод очистки белков, основанный на создании химерных белков, в которых интересующий белок связан с двумя последовательно расположенными белковыми доменами, служащими маркерами для очистки аффинной хроматографией. Два этапа аффинной очистки: сначала с использованием одного маркера, а затем второго — приводят к получению очень чистого образца.

теломера

Конец хромосомы, связанный с характерной последовательностью ДНК и реплицируемый особым образом. Противостоит укорочению хромосом после каждого удвоения. От греческого *telos* — конец.

теломераза

Фермент, удлиняющий теломерные последовательности ДНК, расположенные на концах эукариотических хромосом.

телофаза

Конечный этап митоза, во время которого два набора хромосом деконденсируются и окружаются ядерной оболочкой (приложение 17.1, стр. 1648–1649).

температуро-чувствительный мутант

Организм или клетка, несущие мутацию, проявляющуюся в фенотипе только в определенном диапазоне температур (обычно при высоких температурах) (приложение 8.1, стр. 852–853, и рис. 8.55).

теория клональной селекции (теория клонального отбора)

Теория, объясняющая как приобретенная иммунная система способна высоко-специфично отвечать на миллионы различных антигенов. Из популяции лимфоцитов с широким спектром случайным образом синтезированных антиген-специфических рецепторов данный чужеродный антиген активирует (отбирает) только клоны лимфоцитов, несущие подходящий антигену рецептор (рис. 25.8).

терминатор

Сигнал в бактериальной ДНК, останавливающий транскрипцию.

тилакоид

Уплотненный мембранный «мешочек» в хлоропласте, содержащий хлорофилл и другие пигменты светособирающих реакций фотосинтеза. Стопки тилакоидов образуют граны хлоропластов (рис. 14.35 и 14.36).

тиоловая группа – смотри сульфгидрильная группа**тиоэфирная связь**

Высокоэнергетическая связь, формирующаяся в реакции конденсации между кислотой (ацильной) и тиоловой (-SH) группами. Содержится, например, в ацетил-КоА и многих фермент-субстратных комплексах (рис. 2.62).

тирозинкиназа

Фермент, фосфорилирующий определенные белки по остаткам тирозина. *Смотри также* цитоплазматическая тирозинкиназа (рис. 15.70).

тиризиновая протеинфосфатаза

Фермент, удаляющий фосфатные группы с фосфорилированных остатков тирозина у определенных белков (рис. 25.71).

Т-клетка (Т-лимфоцит)

Тип лимфоцитов, отвечающий за опосредованные Т-клетками иммунные ответы; к Т-клеткам относятся цитотоксические Т-клетки, хелперные Т-клетки и регуляторные Т-клетки.

топоизомераза (ДНК-топоизомераза)

Фермент, связывающий ДНК и обратимо расщепляющий фосфодиэфирные связи в одной или обеих цепях. Топоизомераза I создает временные одностебельные разрывы, позволяющие двойной спирали вращаться и снижать суперспиральное напряжение. Топоизомераза II создает временные двустебельные разрывы, позволяющие одной двойной спирали проходить через другую и, таким образом, расплетать узлы (рис. 5.22 и 5.23).

торможение (ингибирование) по типу обратной связи

Процесс, при котором продукт реакции ингибирует предыдущую реакцию того же пути (рис. 3.56 и 3.57).

тормозной нейромедиатор

Нейромедиатор, открывающий нейромедиатор-зависимые Cl^- - или K^+ -каналы в постсинаптической мембране нервной или мышечной клетки и ингибирующие, таким образом, генерацию потенциала действия.

тотипотентный

Описывает клетку, способную дать начало всем типам клеток организма. На текущий момент тотипотентной *in vivo* считается только зигота.

точечная мутация

Изменение единственной нуклеотидной пары или очень маленькой части гена в ДНК (приложение 8.1, стр. 852–853).

точка начала репликации (ориджин репликации)

Участок молекулы ДНК, где начинается репликация ДНК (рис. 4.21 и 5.25).

точка рестрикции – *смотри* Старт**транзиторные амплифицирующиеся клетки**

Клетки, происходящие от стволовых и делящиеся ограниченное число раз до окончательной дифференцировки (рис. 23.7).

транс

С другой (дальней) стороны.

трансгенный организм

Растение или животное, несущее один или несколько генов чужеродной клетки или организма (встроенных путем инсерции, делеции и/или замещения) и способное передавать их потомкам. Добавленный ген называется трансгеном (рис. 8.64 и 8.65).

транскрипт

РНК, образовавшаяся в результате транскрипции ДНК (рис. 6.21).

транскрипция (транскрипция ДНК)

Копирование одной цепи ДНК в комплементарную последовательность РНК ферментом РНК-полимеразой (рис. 6.21).

транскрипционные факторы (факторы транскрипции)

Общее название белков, связывающих определенную последовательность ДНК и влияющих на транскрипцию гена.

транслокация

(1) Тип мутаций, при котором часть хромосомы отрывается и прикрепляется к другой хромосоме (приложение 8.1 и рис. 20.5). (2) Процесс переноса белка через мембрану.

трансляция (трансляция РНК)

Процесс синтеза белка из аминокислот, последовательность которых задается мРНК. Происходит на рибосоме (рис. 6.66 и 6.67).

трансмембранный белок

Мембранный белок, пронизывающий липидный бислой. Части такого белка располагаются по обеим сторонам мембраны.

трансплантация ядра

Перенос ядра из одной клетки в другую посредством микроинъекции (рис. 8.6).

транспозиция по механизму вырезания и вставки

Тип перемещения транспозона, при котором элемент вырезается из ДНК и встраивается в новое положение специальным ферментом транспозазой (рис. 5.69).

транспозон

Фрагмент ДНК, способный перемещаться по геному путем транспозиции (табл. 5.3, стр. 318).

транспортер (переносчик, пермеаза)

Мембранный транспортный белок, связывающий растворенное вещество и транспортирующий его через мембрану путем последовательных конформационных перестроек. Транспортеры могут пассивно переносить ионы или молекулы против электрохимического градиента или сопрягать конформационные перестройки с источником метаболической энергии, например, гидролизом АТФ, для активного транспорта. *Сравни* ионный канал. *Смотри также* мембранный транспортный белок (рис. 11.3).

транспортная РНК (тРНК)

Небольшие молекулы РНК, используемые в синтезе белков в качестве адаптера между мРНК и аминокислотами. Каждый тип молекул тРНК ковалентно связан с определенной аминокислотой (рис. 1.9 и 6.52).

транс-сеть Гольджи (ТСГ)

Специальный компартмент аппарата Гольджи, состоящий из сети цистернальных и трубчатых структур, связанных с *транс*-стороной (выходной стороной) стопки Гольджи. Из *транс*-сети Гольджи модифицированные белки направляются к клеточной поверхности или в другой компартмент.

транс-сплайсинг

Тип сплайсинга РНК у многих эукариотических организмов, при котором экзоны двух разных транскриптов РНК сшиваются вместе с образованием мРНК (рис. 6.34).

трансфекция

Введение в клетку чужеродной ДНК или РНК без использования вирусов. Обычно за трансфекцией следует экспрессия одного или нескольких генов, содержащихся в составе введенной нуклеиновой кислоты.

трансформация

(1) Введение новой ДНК (например, плазмиды) в клетку или организм, например, в компетентные клетки *E. coli*. (2) Преобразование нормальной клетки в клетку, во многом функционирующую как раковая (т.е. способную к нерегулируемой пролиферации, независимо от прикрепления к культуре).

транселлюлярный транспорт

Транспорт растворенных веществ, например, питательных молекул, через эпителий посредством мембранного транспорта белков на апикальной и базальной поверхностях эпителиальных клеток (рис. 11.11).

транцитоз

Захват вещества с одной стороны клетки посредством эндоцитоза, перенос через клетку в везикулах и высвобождение с другой стороны посредством экзоцитоза (рис. 13.60).

тредмиллинг

Процесс, посредством которого полимерный белковый филамент сохраняет постоянную длину за счет добавления субъединиц с одного конца и потери с другого (приложение 16.2, стр. 1496–1497).

третичная структура

Сложная трехмерная организация свернутой полимерной цепи; термин чаще всего используется применительно к белкам и молекулам РНК.

триацилглицерин (триглицерид)

Молекула, состоящая из трех жирных кислот, связанных эфирными связями с глицерином. Основной компонент липидных капель в животных тканях (где жирные кислоты насыщены) и растительных масел (где жирные кислоты, большей частью, ненасыщены) (приложение 2.5, стр. 180–181).

тримерный G-белок (тримерный GTP-связывающий белок) – смотри G-белок

tРНК – смотри транспортная РНК

тромбоцит

Лишенный ядра клеточный фрагмент, отрывающийся от мегакариоцита в костном мозге и содержащийся в кровяном русле. Способствует запуску сворачивания крови при повреждении кровеносных сосудов.

трофоцит – смотри клетка-кормилица

ТСГ – смотри транс-сеть Гольджи

тубулин

Белковая субъединица микротрубочек (приложение 16.1, стр. 1484, и рис. 16.11).

тургорное давление

Гидростатическое давление, возникающее в растительной клетке в результате захвата воды осомосом; это давление обеспечивает расширение клеток при росте растения и поддерживает жесткость стеблей и листьев (приложение 11.1, стр. 1022).

тяжелая цепь (H-цепь)

Более крупная из двух типов полипептидных цепей молекулы иммуноглобулина.

убиквитин

Небольшой высококонсервативный белок, присутствующий во всех эукарио-

тических клетках. Ковалентное присоединение короткой цепочки убиквитинов к лизину белка маркирует белок для внутриклеточного протеолитического разрушения в протеасоме. (рис. 6.92)

убиквитинлигаза

Фермент, присоединяющий убиквитин к белку и направляющий его на разрушение в протеасомы. Процесс, катализируемый убиквитинлигазой называется убиквитинированием (рис. 3.79).

углевод

Общее название сахаров и родственных им соединений, содержащих углерод, водород и кислород в соотношении, обычно соответствующем эмпирической формуле $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O})_n$.

углеводород

Соединение, состоящее только из атомов углерода и водорода (приложение 2.1, стр. 172–173).

унипорт

Белок-переносчик, транспортирующий через мембрану одно растворенное вещество (рис. 11.8).

уравнение Нернста

Количественное выражение, связывающее равновесное соотношение концентраций иона с двух сторон проницаемой мембраны с разностью потенциалов на мембране (приложение 11.2, стр. 1032).

условная мутация

Мутация, изменяющая белок или молекулу РНК таким образом, что их функция меняется только при определенных условиях, например, при очень высокой или низкой температуре (приложение 8.1, стр. 852–853).

участок внутренней посадки рибосомы (IRES)

Специфический сайт в эукариотической мРНК, помимо 5'-конца, с которого может начаться трансляция (рис. 7.108).

фаг – смотри бактериофаг

фагосома

Крупная внутриклеточная мембранная везикула, образующаяся в результате фагоцитоза. Содержит поглощенное внеклеточное вещество (рис. 24.30).

фагоцит

Клетка иммунной системы, способная поглощать (фагоцитировать) вредные чужеродные частицы, бактерии, а также фрагменты мёртвых клеток собственного организма. Клетки, способные к высокоэффективному фагоцитозу за счет специализированных рецепторов (моноциты, дендритные клетки, макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки), называют профессиональными фагоцитами (рис. 13.46 и 13.47).

фагоцитоз

Процесс, посредством которого нежелательные клетки, чужеродные частицы и крупные соединения эндоцитируются («съедаются») клеткой. Свойственен хищным клеткам, например *Amoeba proteus*, и макрофагам и нейтрофилам позвоночных.

От греческого *phagein* – есть (рис. 24.53).

фазово-контрастный микроскоп

Тип светового микроскопа, в котором используют интерференционные эффекты, связанные с прохождением света через вещества с различными показателями преломления. Используется для визуализации живых клеток (рис. 9.7 и 22.101).

фактор выживания

Внеклеточный сигнал, способствующий выживанию клетки за счет ингибирования апоптоза. (рис. 18.14)

фактор высвобождения

Белок, высвобождающий новосинтезированный белок из рибосомы путем связывания с рибосомой вместо тРНК (чью структуру он повторяет) (рис. 6.74).

фактор инициации (IF, eIF)

Белок, способствующий правильному связыванию рибосом с мРНК и необходимый для инициации синтеза белка. Аббревиатура для эукариотического фактора – eIF, прокариотического – IF. eIF способствуют загрузке Met-тРНК на рибосому, иницируя, таким образом, трансляцию (рис. 6.72).

фактор некроза опухолей (TNF α)

Цитокин, играющий важную роль в инициации воспалительных ответов (рис. 15.79).

фактор обмена гуаниновых оснований (GEF)

Белок, связывающий GTPазу и активирующий ее за счет стимуляции высвобождения связанного GDP, что позволяет ферменту снова связать GTP (рис. 3.73).

фактор роста

Внеклеточный сигнальный белок, стимулирующий рост клеток. Часто выполняет и другие функции, включая стимуляцию выживания или пролиферации клеток. К факторам роста относятся, например, эпидермальный фактор роста (EGF) и тромбоцитарный фактор роста (PDGF).

фактор роста эндотелия сосудов (VEGF)

Секретируемый белок, стимулирующий рост кровеносных сосудов (табл. 15.4, стр. 1418, и рис. 23.35).

фактор транскрипции

Термин, применяемый к любому белку, необходимому для инициации или регуляции транскрипции у эукариот. Включает в себя белки-регуляторы генов, общие факторы транскрипции, коактиваторы, корепрессоры, модифицирующие гистоны белки и комплексы перестройки хроматина (рис. 6.19 и 7.44).

фактор элонгации (EF)

Название, используемое как в транскрипции, так и в трансляции. При транскрипции факторы элонгации связываются с РНК-полимеразой и позволяют ей транскрибировать длинные участки ДНК без диссоциации от цепи. При трансляции факторы элонгации связываются с рибосомами и за счет энергии гидролиза GTP обеспечивают присоединение аминокислот к растущей полипептидной цепи. Важ-

но отметить, что транскрипционные и трансляционные факторы элонгации ничего общего между собой не имеют.

фенотип

Наблюдаемые свойства (включая внешний вид и поведение) клетки или организма (приложение 8.1, стр. 852–853).

фермент

Белок, катализирующий определенную химическую реакцию.

ферментные комплексы дыхания

Три основных белковых комплекса митохондриальной дыхательной цепи, выполняющие функцию электрон-зависимых протонных насосов и создающие протонный градиент через внутреннюю мембрану (рис. 14.14 и 14.26).

фибробласт

Распространенный тип клеток соединительной ткани. Секретирует внеклеточный матрикс, обогащенный коллагеном и другими матричными макромолекулами. Фибробласты активно мигрируют и пролиферируют в поврежденных тканях и в тканевых культурах.

фибронектин

Внеклеточный матричный белок, участвующий в прикреплении клеток к матриксу и направлении мигрирующих клеток в процессе эмбриогенеза. Интегрины на поверхности клеток представляют собой рецепторы фибронектина.

фиксатор

Химическое соединение, например, формальдегид, глутаральдегид или тетроксид осмия, использующееся при подготовке образцов клеток для микроскопии. Обработываемые такими реагентами образцы «фиксируются», а сам процесс называется фиксацией.

фиксация азота

Биохимический процесс, протекающий в определенных бактериях. При фиксации азота происходит восстановление атмосферного азота (N_2) до аммиака, который затем включается в различные азот-содержащие метаболиты.

филогения

Эволюционная история организма или группы организмов, часто представленная в форме схемы — филогенетического дерева (рис. 4.75 и 14.72).

филоподия (микрошипик)

Тонкий, заостренный вырост на ведущем конце ползущей животной клетки. В центре филоподии расположены актиновые филаменты (рис. 16.47).

флавинадениндинуклеотид — смотри FAD/FADH₂

флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)

Метод, в котором флуоресцентно меченые образцы нуклеиновых кислот гибридизируются со специфическими последовательностями ДНК или РНК *in situ*.

флуоресцентный микроскоп

Микроскоп, созданный для наблюдения за веществами, мечеными флуоресцентными красителями. Похож на световой микроскоп, но падающий свет в нем до

того, как попасть на образец, проходит через набор фильтров, отбирающих длину волны, возбуждающую образец. Второй набор фильтров отсекает все длины волн света, не соответствующие длине волны флуоресценции красителя, так что глаз воспринимает только флуорохром.

флуоресценция

Испускание света некоторыми веществами (флуорохромами) по мере того, как их возбужденные поглощением света электроны возвращаются в энергетическое состояние покоя. Испускаемое излучение всегда обладает меньшей энергией (большей длиной волны), чем поглощенное.

фокальная адгезия (фокальный контакт, адгезионная бляшка)

Клеточное соединение, образующее небольшую область на поверхности фибробласта или другой клетки, заякоренную во внеклеточном матриксе. Прикрепление опосредуется такими трансмембранными белками, как интегрины, связанными через другие белки с актиновыми филаментами цитоплазмы.

фолликулярная клетка

Один из типов клеток, окружающих развивающийся ооцит или яйцеклетку (рис. 21.24).

фосфатаза

Фермент, катализирующий гидролитическое удаление фосфатной группы с молекулы.

фосфатидилинозитол

Инозитольный фосфолипид. (рис. 15.37)

фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (PI(4,5)P₂, PIP₂)

Мембранный инозитольный фосфолипид (фосфоинозитид), расщепляемый фосфолипазой C на IP₃ и диацилглицерин в начале инозитолфосфолипидного сигнального пути. Может фосфорилироваться PI 3-киназой с образованием PIP₃-сайтов докинга сигнальных белков в сигнальном пути PI 3-киназа/Akt (рис. 15.38 и 15.64).

фосфатидилхолин (лецитин)

Распространенный фосфолипид, в большом количестве присутствующий в большинстве биологических мембран (рис. 10.3).

фосфоангидридная связь

Высокоэнергетическая связь между фосфатными группами; встречается, например, в АТФ и GTP (приложение 2.6, стр. 182–183).

фосфоглицерид

Фосфолипид, синтезируемый из содержащегося в биомембранах в большом количестве глицерина (рис. 10.2 и 10.3).

фосфодиэфирная связь

Ковалентная химическая связь, образующаяся, когда две гидроксильные группы формируют эфирные связи с одной фосфатной группой, например, как это происходит между соседними нуклеотидами в РНК и ДНК (рис. 2.28).

фосфоинозитид – смотри инозитолфосфолипид

фосфоинозитид-3-киназа (PI 3-киназа)

Мембраносвязанный фермент, входящий во внутриклеточный сигнальный путь PI3-киназа/Akt. Фосфорилирует фосфатидинозитол-4,5-бисфосфат по третьему положению инозитольного кольца с образованием в мембране PIP_3 -сайтов докиннга для других внутриклеточных сигнальных белков (рис. 15.64).

фосфолипаза C (PLC)

Мембраносвязанный фермент, расщепляющий инозитолфосфолипиды с образованием IP_3 и диацилглицерина в инозитолфосфолипидном сигнальном пути. GPCR посредством G-белков активируют PLC β , а RTK активируют PLC γ (рис. 25.39 и 15.55).

фосфолипид

Основной тип липидов, использующихся для сборки биомембран. Обычно состоят из двух жирных кислот, присоединенных через глицеринфосфат (или сфингозинфосфат) к одной из разнообразных полярных групп (рис. 10.3 и приложение 2.5, стр. 180–181).

фосфорилирование

Реакция ковалентного присоединения фосфатной группы к молекуле.

фотоактивация

Метод исследования внутриклеточных процессов, при котором сначала в клетку вводится неактивная форма молекулы, а затем она активируется направленным в определенную точку клетки лучом света (рис. 9.30).

фотодыхание

Не производящий энергию метаболический процесс, протекающий в растениях в условиях низкой концентрации CO_2 . При фотодыхании расходуется O_2 и высвобождается CO_2 без образования углеводов прозапас.

фоторецептор

Чувствительная к свету молекула или клетка.

фоторецепторы

Фоторецепторные клетки сетчатки позвоночных. Классифицируют на палочки и колбочки. Фоторецепторы частично погружены своими световоспринимающими сегментами в пигментный эпителий (рис. 23.16). Строение палочкового фоторецептора приведено на рис. 23.17.

фотосинтез

Процесс, с помощью которого растения, водоросли и некоторые бактерии используют энергию солнечного света для синтеза органических молекул из диоксида углерода и воды (рис. 2.40 и 14.38).

фотосинтетический транспорт электронов

Светозависимые реакции фотосинтеза, в которых электроны движутся по электрон-транспортной цепи в мембране, что приводит к синтезу ATP и NADPH (рис. 14.38).

фотосистема

Мультибелковый комплекс, участвующий в фотосинтезе. Улавливает энергию света и преобразует ее в полезные формы энергии (рис. 14.43).

фотохимический реакционный центр

Часть фотосистемы, при фотосинтезе преобразующая энергию света в химическую энергию (рис. 14.13).

фрагменты Оказаки

Короткие фрагменты ДНК, синтезирующиеся на отстающей цепи ДНК во время репликации. Быстро сшиваются ДНК-лигазой с образованием непрерывной цепи ДНК (рис. 5.7).

фрагмопласт

Состоящая из микротрубочек и актиновых филаментов структура, образующаяся в плоскости деления растительной клетки и направляющая сборку клеточной пластинки (рис. 17.57).

футпринтинг ДНК

Метод определения участка на последовательности ДНК, с которым взаимодействует ДНК-связывающий белок (рис. 7.29).

хеликаза – смотри ДНК-хеликаза**хелперная Т-клетка (Т-хелпер)**

Тип Т-клеток, способствующих стимуляции синтеза антител В-клетками и макрофагами для убийства чужеродных микроорганизмов. Также способствует активации дендритных клеток и цитотоксических Т-клеток.

хемиосмотическое сопряжение (хемиосмос)

Механизм, в котором градиент ионов водорода (градиент рН, или протонный градиент) через мембрану используется в качестве движущей силы энергозатратного процесса, например, синтеза АТФ или вращения бактериального жгутика.

хемокин

Хемотаксический цитокин. Небольшой секретируемый белок, заставляющий клетки, например белые клетки крови, двигаться в направлении его источника. Важен для работы иммунной системы.

хемотаксис

Направленное движение клетки или организма к диффундирующему химическому соединению или от него.

химера

Целый организм, развившийся из объединения двух и более генетически различных популяций клеток (двух и более генотипов), произошедших из разных зигот. *Сравни* мозаицизм.

химерный белок

Созданный методами генной инженерии белок, состоящий из двух и более в норме несвязанных полипептидов. Синтезируется с рекомбинантного гена.

химическая биология

Название подхода, при котором производят широкомасштабный скрининг сотен тысяч малых молекул в биологических пробах для нахождения соединений, влияющих на определенный биологический процесс и которые могут быть впоследствии использованы для изучения этого процесса.

химическая связь

Взаимодействие между двумя атомами, удерживающее их вместе. В живых клетках встречаются связи двух типов — ковалентные и нековалентные. *Смотри также* ионная связь, водородная связь.

хинон (Q)

Небольшой, жирорастворимый подвижный электронный переносчик дыхательной и фотосинтетической электрон-транспортных цепей (рис. 14.24).

хитин

Широко распространенный органический полисахарид, состоящий из звеньев *N*-ацетилглюкозамина. Основной компонент экзоскелета насекомых и клеточной стенки грибов.

хлоропласт

Органелла зеленых водорослей и растений, содержащая хлорофилл. В ней протекает фотосинтез. Является специализированной разновидностью пластид.

хлорофилл

Светопоглощающий зеленый пигмент, играющий центральную роль в фотосинтезе бактерий, растений и грибов.

холестерин

Широко распространенная молекула с характерной, состоящей из четырех колец, стероидной структурой. Важный компонент плазматических мембран животных клеток (рис. 10.4).

хондроцит (клетка хряща)

Клетка соединительной ткани, секретирующая матрикс хряща.

хорда (нотохорд)

Жесткий состоящий из клеток стержень, определяющий центральную вертикальную ось зародышей хордовых. У позвоночных встраивается в позвоночный столб (рис. 22.97).

хроматида

Одна из двух копий удвоенной хромосомы, образующаяся в результате репликации ДНК в S-фазе. Две хроматиды, носящие название сестринских хроматид, соединены в центромере.

хроматин

Комплекс ДНК, гистонов и негистоновых белков, располагающийся в ядре эукариотической клетки. Из него состоят хромосомы.

хроматография

Широкий класс биохимических методов, в которых смесь веществ разделяется в соответствии с их зарядами, размером, гидрофобностью, сродством нековалентного связывания или другими свойствами, позволяющими смеси распределиться между неподвижной и подвижной фазами. Используется для разделения смесей белков и нуклеиновых кислот. Смотри также аффинная хроматография, аффинная хроматография ДНК и высокоэффективная жидкостная хроматография (рис. 8.13 и 8.14).

хромосома

Структура, состоящая из очень длинной молекулы ДНК и связанных с нею

белков и несущая часть (или всю) наследуемую информацию организма. Хорошо видна в растительных и животных клетках во время митоза, когда каждая хромосома конденсируется в компактную палочковидную структуру, различимую в световой микроскоп.

хрящ

Разновидность соединительной ткани, состоящая из клеток (хондроцитов), погруженных в обогащенный коллагеном типа II и протеогликаном хондроитинсульфатом матрикс.

целлюлоза

Структурный полисахарид, состоящий из длинных цепей ковалентно связанных единиц глюкозы. Придает клеточным стенкам растений прочность (рис. 19.78 и 19.79).

целлюляризация

Образование клеток вокруг каждого ядра в многоядерной цитоплазме, что приводит к формированию многоклеточной структуры.

центр инактивации X-хромосомы (ХИС)

Область на X-хромосоме, в котором начинается инактивация. Из этой области инактивация распространяется по всей хромосоме.

центр организации микротрубочек (ЦОМТ, МТОС)

Область клетки, например, centrosoma или базальное тельце, из которой растут микротрубочки.

центральный лимфоидный орган (первичный лимфоидный орган)

Орган, в котором из клеток-предшественников образуются лимфоциты. У взрослых млекопитающих такими органами служат тимус и костный мозг.

центриоль

Короткая цилиндрическая структура, состоящая из микротрубочек. По структуре близка базальному тельцу. Пара центриолей обычно располагается в центре centrosoma животных клеток (рис. 16.31).

центромера

Суженный участок митотической хромосомы, удерживающий вместе сестринские хроматиды. Также служит областью ДНК, где формируется кинетохор, связывающий микротрубочки митотического веретена деления (рис. 4.50).

центросома

Расположенная в центре животных клеток органелла, служащая центром организации микротрубочек и полюсом веретена деления во время митоза. В большинстве животных клеток несет пару центриолей (рис. 16.30 и 17.29).

цикл Кальвина — *смотри* цикл фиксации углерода

цикл клеточного деления — *смотри* клеточный цикл

цикл Кребса — *смотри* цикл лимонной кислоты

цикл лимонной кислоты (цикл трикарбоновых кислот, цикл Кребса)

Центральный метаболический путь аэробных организмов. В ходе него происходит окисление ацетильных групп молекул питательных веществ, и образова-

ние активированных переносчиков NADH и FAD₂, GTP и побочного продукта CO₂. В эукариотических клетках протекает в митохондриях (приложение 2.9, стр. 188–189).

цикл трикарбоновых кислот — *смотри* **цикл лимонной кислоты**

цикл фиксации углерода (цикл Кальвина)

Основной метаболический путь фотосинтетических организмов, в котором CO₂ и H₂O превращаются в углеводы. Требуется ATP и NADPH (рис. 14.40).

циклин

Белок, концентрация которого периодически возрастает и уменьшается по мере прохождения клеткой эукариотического клеточного цикла. Циклины активируют ключевые протеинкиназы (носящие название циклин-зависимых протеинкиназ, или Cdk) и помогают контролировать переход от одной стадии клеточного цикла к другой.

циклин-зависимая киназа (Cdk)

Протеинкиназа, для активации которой необходимо образование комплекса с циклином. Различные комплексы Cdk-циклин запускают различные стадии цикла клеточного деления путем фосфорилирования определенных белков-мишеней (рис. 17.15).

циклический АМР (циклоАМР, сАМР)

Нуклеотид, синтезирующийся из АТФ ферментом аденилатциклазой в ответ на различные внеклеточные сигналы. Служит небольшой внутриклеточной сигнальной молекулой. В основном, активирует сАМР-зависимую протеинкиназу (РКА). Гидролизует до АМР фосфодиэстеразой (рис. 15.34).

циклический GMP (сGMP)

Нуклеотид, синтезируемый из GTP гуанилатциклазой в ответ на различные внеклеточные сигналы.

циклоАМР-зависимая протеинкиназа (протеинкиназа А, РКА)

Фермент, фосфорилирующий белки-мишени в ответ на повышение концентрации внутриклеточного циклического АМР (рис. 15.35).

циклосома — *смотри* **стимулирующий анафазу комплекс**

цинковый палец

ДНК-связывающий структурный мотив многих белков-регуляторов генов. Все мотивы типа цинковых пальцев несут один или несколько атомов цинка, способствующих сохранению белковой конформации.

циркадные ритмы

Внутренний циклический процесс, приводящий к определенным изменениям в клетке или организме с периодом, равным, приблизительно, 24-м часам. Пример: цикл сна и бодрствования у людей.

цис

С одной стороны или вблизи.

цис-сеть Гольджи (ЦСГ)

Набор слившихся везикулярно-тубулярных кластеров, выходящих из эндо-

плазматического ретикулума. Белки и липиды входят в *цис*-сеть Гольджи и по мере движения в *транс*-сеть претерпевают модификации.

цистерна

Уплотненный окруженный мембраной компартмент эндоплазматического ретикулума или аппарата Гольджи (рис. 13.3 и 13.25).

цитозоль

Содержимое основного компартмента цитоплазмы, за исключением таких мембранных органелл, как эндоплазматический ретикулум и митохондрии.

цитокин

Внеклеточный сигнальный белок или пептид, служащий локальным медиатором межклеточного взаимодействия.

цитокinesis

Разделение цитоплазмы растительной или животной клетки надвое, отличное от деления ядра (митоза). Часть М-фазы (приложение 17.1, стр. 1648–1649).

цитокининный рецептор

Поверхностный рецептор, связывающий специфический цитокин или гормон и действующий через сигнальный путь Jak-STAT (рис. 15.68).

цитоплазма

Содержимое клетки, расположенное внутри ее плазматической мембраны, но, в случае эукариотических клеток, за пределами ядра.

цитоплазматическая тирозинкиназа

Фермент, активируемый определенными поверхностными рецепторами (связанными с тирозинкиназами рецепторами) и передающий сигнал внутрь клетки путем фосфорилирования цитоплазматических белков-мишеней по боковым цепям тирозина.

цитоскелет

Система белковых филаментов цитоплазмы эукариотических клеток, придающая клеткам форму и способность к направленному движению. Основными компонентами цитоскелета являются актиновые филаменты, микротрубочки и промежуточные филаменты.

цитотоксическая Т-клетка (Т-киллер)

Тип Т-клеток, отвечающий за убийство клеток организма, зараженных вирусом или другим типом внутриклеточных патогенов.

цитохром

Окрашенный гем-содержащий белок, переносящий электроны во время дыхания и фотосинтеза.

цитохром с

Растворимый компонент митохондриальной электрон-транспортной цепи. Его высвобождение в цитозоль из межмембранного пространства митохондрий также инициирует апоптоз (рис. 14.26).

цитохромный *b-c₁* комплекс

Второй из трех электрон-зависимых протонных насосов дыхательной цепи. Принимает электроны с убихинона (рис. 14.26).

цитохромоксидазный комплекс

Третий из трех электрон-зависимых насосов дыхательной цепи. Принимает электроны от цитохрома *c* и синтезирует воду, используя молекулярный кислород в качестве акцептора электронов (рис. 14.26).

ЦОМТ — *смотри* центр организации микротрубочек

ЦСГ — *смотри* цис-сеть Гольджи

чип — *смотри* ДНК-чип

чувствительные волосковые клетки — *смотри* слуховые волосковые клетки

шаперон (молекулярный шаперон)

Белок, направляющий правильное сворачивание других белков или не дающий им свернуться неправильно. К шаперонам относятся белки теплового шока (Hsp).

шванновская клетка

Клетка глии, отвечающая за образование миелиновых оболочек в периферической нервной системе. *Сравни* олигодендроцит.

шероховатый эндоплазматический ретикулум (шероховатый ЭР)

Эндоплазматический ретикулум, несущий на цитоплазматической поверхности рибосомы. Участвует в синтезе секретируемых и мембраносвязанных белков.

щелевой контакт

Каналообразующее межклеточное соединение, встречающееся почти во всех тканях животных. Позволяет ионам и малым молекулам переходить из цитоплазмы одной клетки в цитоплазму другой.

щелочь — *смотри* основание

щеточная каемка

Плотное скопление микроворсинок на апикальной поверхности эпителиальных клеток кишечника и почек.

экзон

Участок эукариотического гена, несущий последовательность нуклеотидов, которая будет представлена в мРНК или зрелой транспортной, рибосомальной или любой другой молекуле РНК. В кодирующих белки генах экзоны кодируют аминокислоты белка, либо содержат 5' и 3' нетранслируемые области. Экзон обычно соседствует с некодирующей последовательностью ДНК, носящей название интрона (рис. 4.15).

экзонуклеаза

Фермент, отщепляющий нуклеотиды по одному с концов полинуклеотидов. *Сравни* эндонуклеаза.

экзоцитоз

Процесс, благодаря которому клетки секретируют большинство молекул. Секретируемые молекулы упаковываются в мембранные везикулы, которые затем сливаются с плазматической мембраной и высвобождают свое содержимое во внешнюю среду.

ЭКО — *смотри* экстракорпоральное оплодотворение

экспрессия гена

Образование закодированного в гене молекулярного продукта (РНК или белка).

экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО)

Подход к лечению бесплодия, при котором яйцеклетки оплодотворяются спермой вне организма женщины; успешно оплодотворенные яйцеклетки несколько дней культивируются, после чего ранние эмбрионы переносятся в матку матери.

эксцизионная репарация нуклеотидов

Тип репарации ДНК, восстанавливающий повреждения двойной спирали ДНК, вызванные, например, воздействием УФ-излучения или химических агентов. При данном типе репарации вырезается поврежденный участок одной цепи и на его месте заново синтезируется ДНК в соответствии с неповрежденной второй цепью. *Сравни* эксцизионная репарация оснований (рис. 5.48).

эксцизионная репарация оснований

Путь репарации ДНК, при котором происходит вырезание из спирали ДНК отдельных поврежденных оснований и их замена. *Сравни* эксцизионная репарация нуклеотидов (рис. 5.48).

эктодерма

Один из трех зародышевых листков, эмбриональная эпителиальная ткань, являющаяся предшественником эпидермиса и нервной системы.

эластин

Внеклеточный белок, из которого состоят растяжимые волокна (эластические волокна) соединительных тканей.

эластическое волокно

Во многих соединительных тканях животных растяжимое волокно, образованное белком эластином. Придает коже, кровяным сосудам, легким и другим тканям и органам растяжимость и упругость.

электрон

Отрицательно заряженная субатомная частица, вращающаяся вокруг ядра атома (рис. 2.1).

электронная (клеточная) томография

Метод визуализации трехмерных образцов в электронном микроскопе, при котором благодаря повороту предметного столика изображения снимаются с разных точек. Полученные томограммы на компьютере объединяют в трехмерное изображение.

электронная микроскопия по методу замораживания-скальвания

Метод изучения мембранной структуры, при котором мембрану замороженной клетки раскалывают вдоль внутреннего пространства бислоя, разделяя монослои таким образом, что становятся видны их внутренние поверхности.

электронный микроскоп

Микроскоп, в котором для создания изображения используется пучок электронов.

электрон-транспортная цепь

Последовательность реакций, в которой электронные переносчики передают электроны «вниз по цепи» с более высокого на все более низкие энергетические уровни до конечной молекулы акцептора. Энергия, высвобождаемая в процессе движения электрона, может использоваться в качестве движущей силы многих процессов. Электрон-транспортные цепи внутренней мембраны митохондрий (дыхательная цепь) и тилакоидной мембраны хлоропластов создают протонный градиент, использующийся для синтеза АТФ (рис. 14.3 и 14.10).

электропорация

Метод введения ДНК в клетки, при котором короткий электрический импульс временно делает клеточную мембрану проницаемой для чужеродной ДНК. Одновременно ДНК под действием электрического поля перемещается из раствора внутрь клеток.

электрофорез

Метод разделения молекул (обычно белков или нуклеиновых кислот) в соответствии с их скоростью движения в пористой среде под действием электрического поля.

электрохимический градиент

Объединенное влияние разности концентраций иона с двух сторон мембраны и электрического заряда через мембрану (мембранного потенциала). Ионы или заряженные молекулы могут двигаться пассивно только против их электрохимического градиента.

эмбриональные стволовые клетки (ES-клетка)

Клетка внутренней клеточной массы раннего эмбриона млекопитающего. Способна развиваться в любую клетку организма. ЭС клетки можно культивировать, генетически модифицировать и вводить в бластоцисты для получения трансгенных животных.

эндодерма

Один из трех зародышевых листков, эмбриональная ткань, служащая предшественником кишечника и связанных с ним органов.

эндокринная клетка

Специализированная животная клетка, секретирующая гормон в кровь. Обычно входит в состав железы, например, щитовидной железы или гипофиза.

эндокринная сигнализация

Сигнализация посредством гормонов, высвобождаемых железами внутренней секреции в кровяное русло и переносящихся к удаленным клеткам-мишеням, несущим специфичные к этим гормонам рецепторы (рис. 15.4 и 15.5).

эндокринный

Относится к гормонам или секретирующим их железам.

эндонуклеаза

Фермент, расщепляющий нуклеиновые кислоты во внутренней части полинуклеотидной цепи. *Сравни* экзонуклеаза.

эндонуклеаза рестрикции — смотри нуклеаза рестрикции**эндоплазматический ретикулум (ЭР, ER)**

Извилистый мембранный компартмент, расположенный в цитоплазме эукарио-

тических клеток. В нем синтезируются липиды, мембраносвязанные и секреторные белки (рис. 12.36).

эндосома

Мембранная органелла животных клеток, переносящая поглощенные эндоцитозом вещества. Передает вещества лизосомам для расщепления.

эндотелиальная клетка

Тип уплощенных клеток, формирующий выстилающий кровяные и лимфатические сосуды слой (эндотелий).

эндоцитоз

Поглощение вещества клеткой путем инвагинации плазматической мембраны и интернализации мембранного пузырька. *Смотри также* пиноцитоз и фагоцитоз.

энергия активации

Дополнительная энергия, которую необходимо приобрести атомам и молекулам в основном состоянии для достижения переходного состояния и участия в определенной химической реакции (рис. 2.44).

энергия связи

Сила химической связи между двумя атомами. Это энергия, которая необходима для того, чтобы разъединить атомы и удалить их на расстояние, на котором они не взаимодействуют. Для двухатомных молекул энергия связи равна энергии диссоциации молекулы на атомы. Энергия связи выражается в килокалориях или килоджоулях на моль (ккал/моль или кДж/моль).

энтропия (S)

Термодинамическая величина, характеризующая степень неупорядоченности или случайности системы; чем выше энтропия, тем больше неупорядоченность (приложение 2.7, стр. 184–185).

энхансер

Регуляторная последовательность ДНК, с которой связываются белки-регуляторы генов, увеличивая уровень транскрипции структурного гена. Причем сам ген может располагаться на расстоянии тысяч пар оснований от энхансера.

эпигенетическое наследование

Наследование фенотипических изменений клетки или организма, не приводящих к изменению нуклеотидной последовательности ДНК. Может быть результатом положительной обратной связи в случае функционирования белков-регуляторов генов или наследуемых модификаций хроматина, например, метилирования ДНК или модификаций гистонов, приводящих к образованию гетерохроматина (рис. 4.35 и 7.86).

эпидермис

Эпителиальный слой, покрывающий внешнюю поверхность тела. У различных видов животных обладает разной структурой. Внешний слой растительной ткани также называется эпидермисом.

эпинефрин – *смотри* адреналин

эпистатический

Описывает мутацию одного гена, скрывающую влияние мутации другого гена,

когда обе мутации присутствуют в одном организме или клетке.

эпителий

Слой клеток, покрывающий внешнюю поверхность структуры или выстилающий полость.

эпитоп — *смотри* антигенная детерминанта

ЭР — *смотри* эндоплазматический ретикулум

эритропоэтин

Гормон, синтезирующийся в почках и стимулирующий образование красных клеток крови в костном мозге.

эритроцит (красная клетка крови)

Небольшая содержащая гемоглобин клетка крови позвоночных, транспортирующая к тканям кислород, и забирающая от них углекислый газ (рис. 11.40).

ЭС клетки — *смотри* эмбриональные стволовые клетки

эубактерия

Настоящая бактерия в отличие от архей (архебактерий) (рис. 1.21).

эукариоты

Организмы, состоящие из одной и более клеток, несущих ядро. Одна из трех основных ветвей древа жизни; две остальные — Бактерии и Археи (рис. 1.21).

эукариотический фактор инициации (eIF)

Белок, способствующий загрузке инициаторной тРНК или мРНК на рибосому и, следовательно, инициации трансляции.

эухроматин

Диффузно окрашиваемая область на интерфазной хромосоме; «нормальный» хроматин в противоположность более конденсированному гетерохроматину.

эфир (сложный эфир)

Молекула, образующаяся в результате реакции конденсации спиртовой группы с кислотной группой. Фосфатные группы при присоединении к другой молекуле обычно образуют эфиры (приложение 2.1, стр. 172–173).

эфрин

Представитель семейства мембраносвязанных белковых лигандов рецепторных тирозинкиназ Eph (RTK Eph), который, помимо других функций, стимулирует ответы притяжения или отталкивания, направляющие миграцию клеток и аксонов нейронов в процессе развития животных.

эффект положения — *смотри* позиционный эффект

эффektorная клетка

Клетка, обеспечивающая конечный ответ или функцию в определенном процессе. В иммунной системе, например, основными эффекторными клетками являются лимфоциты и фагоциты, уничтожающие патогены.

ядерная ламина — *смотри* ядерная пластинка

ядерная оболочка (ядерная мембрана)

Двойная мембрана (состоящая из двух бислоев), окружающая ядро. Состоит

из внешней и внутренней мембран и пронизана ядерными порами. Внешняя мембрана является продолжением эндоплазматического ретикулума (рис. 4.9 и 12.8).

ядерная пластинка (ядерная ламина)

Фибриллярная сеть белков на внутренней поверхности внутренней ядерной мембраны. Состоит из сети промежуточных филаментов, образованных белками — ядерными ламинами.

ядерный ламин

Белковая субъединица промежуточных филаментов, формирующая ядерную пластинку.

ядерный магнитный резонанс — смотри ЯМР

ядерный поровый комплекс (ЯПК, NPC)

Крупная мультисубъединичная структура, формирующая водный канал (ядерную пору) в ядерной оболочке. Позволяет определенным молекулам перемещаться между ядром и цитоплазмой (рис. 12.9).

ядро

Окруженная мембраной органелла эукариотических клеток, содержащая всю генетическую информацию клетки в виде ДНК, входящей в состав хромосом. В ядре происходит репликация ДНК, транскрипция РНК и некоторые другие клеточные процессы. Заметим, что синтез белка (трансляция мРНК) проходит в цитоплазме клетки.

ядрышко

Структура в ядре, где транскрибируется рРНК и происходит сборка рибосомных субчастиц (рис. 4.9).

ядрышковый организатор

Область хромосомы, содержащая кластер генов рРНК ядрышка (рис. 6.47).

яйцеклетка

Зрелая женская половая клетка.

ЯМР (ядерный магнитный резонанс, ЯМР-спектроскопия)

ЯМР — это резонансное поглощение электромагнитного излучения определенной частоты атомным ядром в магнитном поле за счет изменения ориентации ядерных магнитных дипольных моментов. Спектр ЯМР дает информацию о химическом окружении ядра. ЯМР широко используется для определения трехмерной структуры небольших белков и малых молекул. Принципы ЯМР также используются в медицине в диагностических целях в магнитно-резонансной томографии (МРТ) (рис. 8.29).

ЯПК — смотри ядерный поровый комплекс

Предметный указатель

Страницы, выделенные **полужирным** шрифтом, относятся к основному обсуждению термина; страницы с приставкой «Р» относятся к рисункам, с «РР» — к рисункам, идущим друг за другом; страницы с приставкой «Т» относятся к таблицам; *ср.* означает сравни/сравнение.

- α -Актинин, упаковка актиновых филаментов, 1524Р, 1545, 1545Р
- α -Аманитин, 592Т
- α -Бунгаротоксин, влияние на ацетилхолиновые рецепторы, 1053
- α -Кетоглутарат, 155, 187, 188Р
 - дегидрогеназный комплекс, 188Р
- β_2 -Микроглобулин, взаимодействие МНС/антиген, 2427Р
- β -Глобин ген, 391
 - мутации, 444, 444Р, 545Р, 696, *см. также* Талассемия, нарушения β -глобина
 - неправильная модификация пре-мРНК, 545Р
 - последовательность ДНК человека, 305Р, 307Р
 - регуляция экспрессии гена, 694Р, **693–696**
 - *ср.* человек и мышь, 382Р, 494Р
 - структура, 534Р
 - структура хроматина, 444
- β -Липотропин, 1233Р
- β -Меркаптоэтанол, 798
- β -Эндорфин, синтез, 1233Р
- δ -цепь, Т-клеточный рецептор, 2413
- γ -ТуRC, *см.* Кольцевой комплекс γ -тубулина (γ -TuRC)
- γ -Липотропин, 1233Р
- γ -Секретаза, 1518
- μ -цепи, IgM, 2384
- 3 H-Уридин, радиоавтография, 928
- 2-Фосфоглицерат, 186Р
- 3-Бисфосфоглицерат, 1, 186Р
- 3-Фосфоглицерат, 143, 145Р, 186Р
- 4-Динитрофенол, 2, 1285
- 46 BR пациент, дефекты репарации ДНК, 453Т
- 5-Гидрокситриптамин (5-НТ), *см.* Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ)
- 5-Метилцитозин, 658Р
 - дезаминирование, 462Р, 725
- метилирование ДНК, 721, 721Р
- структура, 462Р
- 3'-Фосфоаденозино-5'-фосфосульфат (PAPS), 1191, 1191Р
- 5'-Кэпирование эукариотической мРНК, 528, 531Р, **531–533**
 - гуанилтрансферазная реакция, 531
 - дэкапирование, 759
 - кэп-связывающий комплекс (CBC), 531–533
 - метилтрансферазная реакция, 531
 - реакция, 531, 533Р
 - упорядочивание пре-мРНК, 541
 - фосфатазная реакция, 531
 - функции, 531–533
- ABC-переносчик(и), 29Р, 1017, **1020–1027**
 - белок множественной лекарственной устойчивости, 1023–1025
 - вспомогательный транспорт, 1025Р
 - молекулярное устройство, 1017Р
 - презентация антигена, 2430
 - связывание АТР, 1023
- *ср.* бактериальные и эукариотические, 1023Р
- Abl*, ген, хронический миелоидный лейкоз, 1928, 1928Р
- Ac-Ds элементы, 486Т
- Acanthamoeba castellanii*, миозин, 1554
- AcetylCoA (ацетилкофермент А), 133Т, 151–152
 - запасание энергии, 151
 - митохондриальный синтез, 151, 152Р, 1257, *см. также* Цикл лимонной кислоты
 - окисление жирных кислот, 152Р
 - структура, 131Р
- Achaete* ген, 2071
- AcylCoA жирной кислоты, 151

- ADAR, см. Аденозиндезаминаза(ы) (ADAR)
- ADP (аденозиндифосфат, АДФ)
- D-форма актина, 1520
 - образование из АТФ, 126, 126Р
 - отношение АТФ/ADP, 1266–1267
- Aequoria victoria*, 911
- Aeropyrum pernix*, размер генома, 27Т
- Agamous* ген, 2161Р
- Agamous* мутант *Arabidopsis*, 2160, 2160Р
- AID, см. Деаминаза, индуцируемая активацией
- Akt (протеинкиназа В), 1517
- при раке, 1904
- Alexa краситель, 904, 904Р
- Alu элементы, 492, 494Р
- AMP (аденозинмонофосфат, АМФ)
- синтез из АТФ, 136, 136Р
 - циклический, см. Циклический AMP
- AMPA-рецепторы, гиппокамп, 1061
- Anabaena*, 23Р
- Antirrhinum* (львиный зев), мутация, приводящая к развитию листовых побегов вместо цветков, 45
- АР-эндонуклеаза, репарация вырезанием оснований, 457, 459Р
- АР2/EREВР белки-регуляторы генов, 2142Т
- Araf1, апоптоз, 1722, 1723Р
- АРС (белок/ген аденоматозного полипоза толстой кишки), 1518, 1916
- colorectal cancer, 1916Т, 1917
- АРС/С, см. Анафаза-стимулирующий комплекс (АРС/С)
- Apetala2* ген, 2161Р
- Apetala2* мутант *Arabidopsis*, 2160, 2160Р
- Apetala2*/связывающийся с реагирующим на этилен элементом белок, 2142Т
- Apetala3* ген, 2161Р
- Apetala3* мутант *Arabidopsis*, 2160, 2160Р
- Aplysia*, клеточное движение, 1596
- АРОВЕС, 2354
- Apterous* ген, 2066, 2067
- Aquifex*
- в древе жизни, 24Р
 - размер генома, 27Т
- Arabidopsis thaliana* (резуховидка Таля), 52Р, 56Р, 2139РР
- белки-регуляторы генов, 2142Т
 - генетический скрининг, 2140Р, 2144
 - геном, 214, 221, 874, 2140–2142
 - размер, 27Т
 - модельное растение, 52, **53–56**, 872–874, **2139–2140**
 - мутантные проростки, 2144Р
 - трансгенный, 874
 - цветки, 2159Р
 - гомеозисные мутации, 2160Р
 - экспрессия гомеозисных селекторных генов в цветке, 2161Р
 - эмбриогенез, **2142**, 2144Р, **2144**
- Archaeoglobus fulgidus*, размер генома, 27Т
- ARF белки, **1164**, 1699
- Argonaute белок, 762, 762Р, 766
- ARP, см. Актиноподобный белок
- ARP (актиноподобный белок), 1524Р, 1529, 1567
- ARP комплекс (ARP 2/3 комплекс), 1529, 1529Р
- в ламеллоподиях, 1593, 1593Р
 - движение патогенов, 2323
- Ars (автономно реплицирующаяся последовательность), 440, 442Р
- Ascaris*, 2277, 2295Р
- *Ascaris lumbricoides*, 2280
- Ash1 белок-регулятор генов, 1569, 1569Р
- АТ-АС сплайосома, 542–544, 544Р
- АТМ протеинкиназа
- дефекты, 453Т, 505
 - мутация, 1697
 - повреждение ДНК и, 1696
- Atoh1* ген, 2191
- АТФ (аденозинтрифосфат, АТФ), 10–12
- биосинтетическая роль, 128, 128Р
 - гидролиз, см. Гидролиз АТФ
 - исторические аспекты, 142
 - носитель энергии, 95, 96Р, 123, **126–128**
 - радиомечение, 928Р
 - распространенность, 128
 - синтез, см. Синтез АТФ
 - скорость использования, 252
 - транспорт, 1264
 - химическая структура, 95Р, 182Р
- АТФ-кэпы, актиновые филаменты, 1520, 1520Р
- АТФ-опосредованное фосфорилирование, 133Р

- АТФ-синтаза, 1017, 1248, 1251P, *см. также*
 Гидролиз АТФ, Синтез АТФ
- бактериальная, 1289
 - локализация в митохондриях, 1263, 1312P
 - локализация в хлоропластах, 1312P
 - механизм работы, 1264–1266
 - натрий-зависимая, 1289–1290
 - обратимость, 1270P, **1270–1272**
 - — бактерии, 1289
 - — энергетика, 1270–1272
 - окислительное фосфорилирование, 1263P, **1263–1264**
- АТФ:АДФ отношение, 1266–1267
- АТФазы (ионный транспорт), **1015–1017**, 1023, *см. также конкретные насосы/белки*
- АТР протеинкиназа, повреждение ДНК, 1696
- Аутога В киназа, 1664
- Аутога киназы, 1650
- В-клетки, 2363
- В-клеточные рецепторы, 2165P, **2449–2451**, 2451P
 - — *ср.* Т-клеточный рецептор, 2449–2451
 - В1 клетки, 2457
 - В2 клетки, 2457
 - активация, 2367P, **2367–2368**, 2382, 2385P, 2408P, **2408**, 2451P
 - — В-клеточные рецепторы, 2449, 2451P
 - — Т-хелперы (Т_H), 2418–2420, 2453P, 2453–2456
 - — выбор локусов антител, **2403–2404**, 2404P
 - иммунологический синапс, 2453Т
 - корецепторы, 2448–2449, 2451P
 - моноспецифичность, 2403–2404
 - память, 2372
 - покоящиеся, 2368P
 - развитие, 2367P, 2367–2368, 2382, **2384–2385**, 2385P, *см. также* Иммуноглобулин(ы)
 - — выбор локусов антител, **2403–2404**, 2404P
 - — переключение класса, 743–744, 2408P
 - регуляция, сигнализация посредством рецепторов Fc, 2451
 - рециркуляция, лимфоидные фолликулы лимфатических узлов, 2379
 - синтез антител, 2382
 - — посттранскрипционный контроль, 743–744
 - синтез гибридомы, **785–786**, 786P
 - события сигнализации, 2165P, 2451P
- В-клетки памяти, 2372
- В-клеточный лейкоз, происхождение, 1868
- В-лимфоциты, *см.* В-клетки
- В1 элементы, 494P
- В7 белки, 2445Т, 2448, 2449P
- активация Т-клеток, 2443P
 - презентация антигена, 2442
 - связывание СТЛА4, 2443–2445
- ВАС (бактериальная искусственная хромосома), векторы клонирования ДНК, 834, 849
- Bacillus anthracis*, 2287
- Bacillus subtilis*, 27Т, 29P
- Bacillus*, 24P, 27Т
- Bacteroides*, 2300
- Vad белок, PI3-киназная сигнализация, 1517, 1517P
- Vak, апоптоз, 1723
- Vax, апоптоз, 1723
- VBP, *см.* Связывание точки ветвления, белок (VBP)
- Vcr* ген, хронический миелоидный лейкоз, 1928, 1928P
- Vcr-Abl белок, 1928
- Гливек и, 1929P
- VEAF белок, связывающий инсулятор, 697P
- Beggiatoa*, 23P
- VH3 домен, белки, апоптоз, 1725–1726
- bHLH, *см.* Базовые белки «спираль-петля-спираль» (bHLH)
- Vicoid белок, 2037, 2037P, 2039, 2039P
- активатор гена *Eve*, 448–449, 691P
 - локализация мРНК, 749–751, 1567–1569
 - развитие *Drosophila*, 1567–1569
- Bid*, апоптоз, 1726
- BiP, **1131**, 1177
- Bithorax комплекс, 2051, 2051P
- BLAST выравнивание последовательностей, анализ белков, 819, 819P
- Blc-X_L белок, целостность мембраны, 1723–1725

- B1c2 белки, 1725P, **1722–1726**
 — при раке, 1730, 1905
 BMP (костные морфогенетические белки) семейство, 2042, 2205
Bordetella pertussis, 2303, 2304
Borrelia burgdorferi, хроническое заболевание, 2299
 Brachyury («короткохвостый»), белок, 2094
Branchless ген, 2113
 Brat белок, 2079
 Brcal/Brc2 белки, 480
 BrdU (бромдезоксисуридин)
 — анализ клеточного цикла, 438, 438P, 1629, 1629P
 — деление мышечных клеток, 2180
 — эпидермальное клеточное деление, 2175
Breathless ген, 2113
 BRI1 рецепторная киназа, 1519
Bride-of-sevenless мутант, *Drosophila*, 1516
 Bs1 транспозон, 486T
 BY2 бессмертная клеточная линия, микрографии клеточных культур, 779P
 BZIP белки-регуляторы генов, представители семейства в различных эукариотах, 2142T
- C₄-растения, 1299–1300, 1300P
 C-Cbl белок, 1516
 C-концевой домен (CTD), РНК-полимераза II, 523–525
C. elegans, см. *Caenorhabditis elegans*
 C2C2 (белок с цинковыми пальцами)/GATA белки-регуляторы генов, 2142T
 C2H2 (Zn-палец) белки-регуляторы генов, 2142T
 C6 (белок с цинковыми пальцами) белки-регуляторы генов, 2142T
 Ca²⁺-АТРаза, см. Кальциевый насос (Ca²⁺-АТРаза)
 Ca²⁺-насос, см. Кальциевый насос (Ca²⁺-АТРаза)
 Ca²⁺/кальмодулин, см. Кальмодулин
Caenorhabditis elegans, 53P, 56P, 2020P, **2019–2030**
 — РНК-интерференция (RNAi), 877, 877P
 — анатомия взрослой особи, **2019**
 — апоптоз, ICE, 1717
 — геном, 27T, 29T, 849
 — гермафродиты, 2019
 — как модельный организм, 52–53, 56
 — карты взаимодействия белков, 286
 — микротрубочки, 1521P
 — мутанты, 856P, 867P
 — определение пола, 1960P, 1965
 — половое размножение, 2019
 — развитие, см. *Caenorhabditis elegans* развитие
 — размер, 2280
 — цикл линьки, 2020
 — число клеток, 200
Caenorhabditis elegans развитие, **2019–2030**
 — АВa клетка, 2023, 2023P, 2023PP
 — АВp клетка, 2023, 2023P, 2023PP
 — Е клетка, 2023, 2023PP
 — EMS клетка, 2023, 2023P, 2023PP
 — MS клетки, 2023, 2023PP
 — Р₂ клетки, 2023, 2023PP
 — Р-гранулы, 2021P, 2021–2023
 — rop-1, 2024
 — Vasa белок, 2023
 — Wnt путь сигнализации, 2023, 2023P, 2024
 — асимметричное деление клеток, 2021P, **2021–2023**
 — белки-регуляторы генов, 2142T
 — гены, 2021, см. также конкретные гены
 — — *tom* (more mesoderm, больше мезодермы), 2024
 — — *pop* (posterior pharynx, задняя глотка), 2024
 — — гетерохронные гены и времена, 2026P, 2026–2028
 — — материнский эффект, **2021–2023**
 — зародышевая линия, 2019, 2020P, **2020**, 2023
 — индукционное межклеточное взаимодействие, 2023, 2023PP
 — кишечник, 2020P
 — клетки зародышевой линии, 2020–2021, 2021P
 — клетки-основательницы, 2020
 — клеточная смерть, 2028P, **2028–2030**
 — определение пола, 1960P, 1965
 — поляризирующий сигнал, 2021
 — структурирование клеток, **2023**
 — судьба клеток, 2020
 — точность, 2020

- эпителиальные механизмы формирования апикально-базальной полярности, 1773–1775
- яйцеклетка, 2021
- CAF, см. Факторы сборки хроматина (гистоновые шапероны, CAF)
- CAK, см. Cdk-активирующая киназа (CAK)
- CAM, см. Молекулы клеточной адгезии (CAM)
- CaM-киназа (Ca²⁺/кальмодулин-зависимая протеинкиназа), **1515**, 1515P
- CAMP, см. Циклический AMP (сAMP, цАМФ)
- CAP, см. Активатор катаболизма, белок
- CapZ белок, 1538
- Caulobacter crescentus*, форма цитоскелета, 1521
- CBC (кэп-связывающий комплекс), 533
- CCR5, рецептор ВИЧ, 2306P, 2306–2308
- CD28, 2442, 2443P, 2445T
- CD3 комплекс, Т-клетки, 2442P, 2445T, 2457P
- CD4 Т-клетки, 2427, 2445T, 2457P, см. также Т-хелперы (Т_H)
 - негативная селекция, 2437, 2437P
 - позитивная селекция, 2436, 2437P
- CD4 белок, 2427T, 2427–2428, 2428P, 2445T, 2457P
 - презентация антигена, 2442
 - рецептор ВИЧ, 2306, 2306P
 - роль в проникновении вируса в клетку, 1174P
- CD40 лиганд, 2442, 2445T, 2448, 2449P, 2453
- CD40 рецепторный белок, 2442, 2445T
 - на В-клетке, 2453, 2456T
 - на макрофаге, 2446P, 2448
- CD8 Т-клетки, 2427, 2445T, 2457P, см. также Цитотоксические Т-клетки (Т_C)
 - негативная селекция, 2437, 2437P
 - позитивная селекция, 2436, 2437P
- CD8 белок, 2427T, 2427–2428, 2428P, 2445T, 2457P
 - презентация антигена, 2442
- CD80, 2445T
- CD86, 2445T
- CD9, связывание сперматозоида с яйцеклеткой, 1983–1985
- Cdc гены, 1624–1626
 - температурочувствительные мутанты, 1626, 1626P
- Cdc20, регуляция APC/C, 1066T, 1636, 1639, 1670, 1689
- Cdc25 фосфатаза, 1635, 1646, 1646P
- Cdc42, 1042P, 1601, 1775, 2323
- Cdc6, 289P, 444, 1642
- Cdh1, регуляция APC/C, 1636, 1639T, 1691
- Cdk (циклин-зависимая киназа), см. Циклин-зависимые киназы (Cdk)
- Cdk-активирующая киназа (CAK), 1635, 1635P, 1639T
- Cdk4, в раке, 1902, 1904P
- Cdt1, связывание ORC, 1642
- Ced 4* ген, 2028, 2028P
- Ced3* ген, 2028, 2028P
- Ced9* ген, 2028, 2028P
- CENP-A, 352–353, 355P
- Cesa* (гены cellulose syntase), 1837–1838
- CFTR, см. Трансмембранный регулятор муковисцидоза (CFTR)
- CG (CpG) островки, 668, **725–726**, 2341
 - повреждение ДНК, 460–462, 725
 - роль во врожденном иммунитете, 2346
 - эволюция, 668, 725
- Ch4 элементы, 486T
- CheA, 1517, 1517P
- Chk1 протеинкиназа, 1696, 1697P
- Chk2 протеинкиназа, 1696, 1697P
- Chlamydia pneumoniae*, 2299, 2299P
- Chlamydia trachomatis*, 2316, 2317P, 2318
- Chlamydomonas*, жгутик, 1583, 1585
- CKI, см. Белки-ингибиторы Cdk (CKI)
- Clavata, 1, 3, 1518, 1519P
- Clavata1 белок, 2155, 2155P
- Clavata3 белок, 2155, 2155P
- Clv1 (Clavata 1), меристема, 1519P
- Clv3 (Clavata 3), 1518, 1519P
- Commissureless белок, 2125
- COPI-окаймленные пузырьки, 1154, 1158, 1158PP
- Сор₁, мобильный элемент, 486T
- COPII-окаймленные пузырьки, 1154, 1158P, 1164P, 1177P, **1177**
- Coslat2 белок, 1518
- CpG мотив, см. CG (CpG) островки
- CPI, экспрессия гена β-глобина, 694P

- CPSF (фактор специфичности расщепления и полиаденилирования), 548P, 548–550
- CRE (сАМР-чувствительный элемент), 1514
- Cre/Lox система, 871–872, 2060, 2209
- CREB (CRE-связывающий белок), 1514, 1514P
- Cro репрессор, 214, 214P, 648P, 704–705, 705P, *см. также* Лямбда репрессор
- Crumbs комплекс, эпителиальная апикально-базальная полярность, 1775, 1776P
- CstF (фактор стимуляции расщепления F), 548P, 548–550, 743–744
- CTCF белок, 725P
- CTLA-4 белок, регуляция Т-клеток, 2445T
- CTLA4, связывание В7, 2443–2445
- CTXφ бактериофаг, 2285P
- Cubitus interruptus (Ci) белок, 1518, 1518P
- CXCR4, 2102, 2306P, 2306–2308
- Cy3 флуоресценция, 904, 904P
- Cy5 флуоресценция, 904, 904P
- Cys-Cys-His-His белки, «цинковые пальцы», 649P
- Dac (dachshund)* ген, 719
- Dachsous*, плоскостная полярность клеток, 1778
- Dally/Dally-like* гены, 1815, 1815T
- DAN фермент, 759P
- DAPI, *см.* ДАФИ
- Daz* ген/белок, регуляция сперматогенеза, 1979–1980
- DCC рецепторный белок, 2123, 2123P
- De novo* ДНК-метилтрансферазы, метилирование ДНК, 721
- Decapentaplegic (Dpp)* ген, 2040
- Decapentaplegic (Dpp) белок, 2040, 2067P, **2067**, 2070P
- Delta-Notch сигнализация, *см. также* Notch рецепторный белок; Notch сигнальный путь, *см.* Notch сигнальный путь Delta белок
- *C. elegans*, ранний эмбрион, 2023
- *Drosophila*, развитие сенсорного волоска, **2076**
- латеральное ингибирование, 1518, 2074PP
- Delta-Notch сигнализация/латеральное ингибирование, 1518P
- Desert hedgehog белок, 1518
- Dicer белок, РНК-интерференция (RNAi), 766
- Dickkopf белок, 2012T
- Dictyostelium*, 24P
- локализация миозина I и II в ползущей амебе, 1598, 1598P
- хемотаксис, 1604
- Didinium*, 40P
- DISC (индуцирующий смерть сигнальный комплекс), апоптоз, 1720, 1720P
- Discs large (Dlg) белок, 1764P, 1764–1765, 1772
- Dishevelled* ген/белок, плоскостная полярность клеток, 1778, 2076
- Distal-less ген, 2064, 2064P, 2070
- DnaB белок, 434P
- DnaC белок, 434P
- DnaG белок, 434P
- dNTP, *см.* Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (dNTP)
- Dorsal белок, *Drosophila*, 2039–2040, 2040P
- Doublesex (Dsx)* ген, пол *Drosophila*, определение, 742, 743P
- Dpp* (decapentaplegic) ген/белок, 2040, 2067P, **2067**, 2070
- Drk* ген, 1516P
- Drosophila melanogaster*
- РНК-интерференция (RNAi), 877
- анатомия взрослого насекомого, 2030P, 2030–2033
- апоптоз, 1728, 1729
- белки-регуляторы генов, 2142T
- геном, *см. также* хромосомы (выше)
- кодирование информации, 505, 506P
- мобильные генетические элементы, 486T, 741, 855
- размер, 27T
- секвенирование, 551., 849
- гомеодоменные белки, 660, *см. также* Гомеодоменные белки
- гомологии у позвоночных, 1996, 1996P, 1999
- как модельный организм, **53–55**
- карты белковых взаимодействий, 286
- локализация мРНК, 1567–1569
- многоклеточное развитие и, 690P, 691P, 691PP, **688–693**, 717–719, 719P

- мутанты волосков крыльев, 1776P, 1776–1778
- ооцит, 1567–1569
- развитие, *см.* *Drosophila* развитие
- сборка фоторецептора, 1516P
- хромосомы, 363P
- политенные, *см.* Политенные хромосомы
- половые хромосомы, 742
- связь генов и хромосом (доказательство), 53–55, 55P
- хромосома, 2, 506P
- циркадные часы, **710–712**, 712P
- цитоскелет, 1519, 1519P, 1521
- экспрессия генов
 - альтернативный сплайсинг, 739
 - компенсация доз генов, 732
 - позиционные эффекты, 338–340
 - регуляторные белки, 644T, 688, 690P, 2142T
 - хромосомные пuffs, 337–340
- Drosophila melanogaster*, гены сегментации, 2043P, **2042–2045**, 2045P, *см. также отдельные гены*
- gap-гены, 2037, 2043P, 2043–2045, 2045P
- pair-rule гены, 2037, 2043P, 2043–2045
- гены полярности сегментов, 2037, 2045P, 2046
- организация регуляторной ДНК (ген *eve*), 690P, 691P, 691PP, 688–693, 2046P, **2046–2048**, 2048P
- Drosophila* развитие, **2030–2050**
- анализ клеточного цикла, 1627
- генетическая модель, 2031
- генетические исследования раннего формирования организма, 2036
- генетические методы, 2031
- генетический контроль/регуляция, 627–629, 690P, 691P, 691PP, 688–693, *см. также конкретные гены*
 - *Even-skipped*, *см.* *Eve* (*Even-skipped*) ген
 - *Ey* ген, 719, 719P
 - гены сегментации, *см.* *Drosophila melanogaster*, гены сегментации
 - гомеозисные гены, *см.* Гомеозисные гены, *Drosophila melanogaster*
 - роль Ras в развитии глаза, 1516, 1516P
 - имагинальные диски, 2034, *см. также* Имагинальные диски
 - ключ к механизмам развития других организмов, 55
 - определение пола, 742P, 742–743, 743P
 - органогенез и развитие придатков, 2058–2081, 2083
 - вставочная регенерация, 2069P, **2069**
 - границы компартментов как сигнальные центры, 2067P, 2067–2070
 - имагинальные диски, 2063P, **2061–2064**, 2071–2073
 - индивидуальность, определяемая гомеозисными селекторными генами, 2064
 - компартменты, 2066PP, 2067P, **2066–2070**
 - развитие глаза, 719, 719P
 - регуляция размера, 2067–2069
 - переднее-задняя ось, 2050–2058, *см. также* Гомеозисные гены, *Drosophila melanogaster*
 - ранний зародыш и формирование плана тела, 2030–2050
 - бластодерма, 2033PP, 2033–2034
 - гастрюляция и формирование мезодермы, 2040, 2042P, 2048
 - гены полярности яйца, *см.* Гены полярности яйца (*Drosophila*)
 - гены сегментации, *см.* *Drosophila melanogaster*, гены сегментации
 - градиенты морфогенов, 2037–2039, 2039PP, 2040P, 2040PP, 2042
 - дорсо-вентральная ось, 2040P, 2040PP, 2039–2043
 - карта зачатков, 2034P, 2036P
 - локализация мРНК, 751, 753P, 2037–2039, 2039P
 - обзор, 2031P
 - ооцит, 2037P
 - определение пола, 1965
 - переход от синцития к клеткам, 2033–2034
 - плоскостная полярность клеток, 1776, 1776P
 - регуляторная иерархия, гены, 2045P
 - *ср.* план тела позвоночных, 2042P
 - фолликул, посылающий сигналы поляризации яйца, 2037P

- формирование оси тела, 2036P, 2037–2039, 2039P
- формирование синцития, 1688, 1689P
- яйцеклетка, 2033, 2034P
- *ср.* парасегменты и сегменты, 2033, 2033P
- формирование оогониев, 1972, 1972P
- целлюляризация, 1688, 1689P
- Dscam* ген, альтернативный сплайсинг, 739P
- E6* вирусный онкоген/белок, 1910, 1911P
- Е-кадгерин, 1745, 1748Т
- инвазия рака, 1911–1913
- эпителиально-мезенхимальный переход, 1753
- Е-селектин, 1761
- Е-участок (связывание рибосомы), 575P, 576
- E. coli*, *см. Escherichia coli*
- E2F белки, **1693–1696**, 1904P
- E7 вирусный онкоген/белок, 1910, 1911P
- EF-1 фактор элонгации, 578P
- EF-2 фактор элонгации, 578P
- EF-G фактор элонгации, 578, 578P
- EF-Tu фактор элонгации, 275, 275P
- GTP-связывающий белок, 273–275, 275P, 578
- конформационные изменения, 273–275, 275P, 578
- синтез белка, 273, 578P, **578–580**
- EGF, *см. Эпидермальный фактор роста (EGF)*
- eIF (эукариотические факторы инициации), 584P, *см. также* Кэп-связывающий комплекс (СВС)
- eIF-2, 753–754, 756P, 2354
- eIF4E, 584, 757
- eIF4G, 584
- регуляция фосфорилированием, 753–754, 756P, 756–757
- EJC, *см. Комплексы соединения экзона (EJC)*
- Endo Н-устойчивые олигосахариды, 1189P
- Engrailed* ген/белок, 1996P, 2048P, 2048–2050, 2066, 2066P
- *ср.* белковая структура и дрожжевой белок $\alpha 2$, 207P
- Env* ген, ВИЧ (вирус иммунодефицита человека, HIV), 2331
- Eph В, миграция эпителиальных клеток кишечника, 2203–2205, 2205P
- Eph-рецепторы, 1516, 1516Т, 2129–2131
- Epulopiscium fishelsoni*, 21P
- ERGIC53 белок, транспорт из ЭР в аппарат Гольджи, 1177
- Erk (MAP-киназа), 1516P
- ERM (эзрин, радиксин, моезин) семейство белков, 1548, 1550P
- ERp57, фолдинг белков, 1132P, 1147P
- Escherichia coli*, 21P
 - Р-пили, 2301
 - RecA белок, *см. RecA* белок
 - геном, 36P, 432
 - размер, 27Т
 - репликация, 432, 434P, 436P
 - секвенирование, 849
 - хромосома, 2283P
 - двойная мембрана, 1023P
 - жгутик, 1517, 1517P
 - как модельный организм, **35–36**, 36P
 - мутации, 405, 423–425
 - направляемое цепью исправление ошибок, 425
 - промоторные последовательности, 519P
 - регуляция экспрессии генов, 640, 667P, 676, 676Т
 - лактозный (*Lac*) оперон, *см. Lac*-оперон (*Escherichia coli*)
 - репликация, 432, 434P
 - рефрактерный период, 432, 436P
 - структура ДНК-полимеразы, 410P
 - структура погрузчика зажима, 421P
 - транспозоны, 486Т
 - уропатогенная, 2301, 2303P
 - филогенетика, древо жизни, 24P
 - энтеропатогенная, 2304, 2304P
- Euglena*, древо жизни, 24P
- Eve (Even-skipped)* ген, 10000
 - комбинаторный контроль, 691P, 690–693
 - модульный контроль профиля экспрессии, 690P, 690–691, 691P, 2043, 2046, 2046P
- Ey* (*Eyeless*) ген/белок, 719, 719PP, 1996P, 2066
- Eya (Eyes absent)* ген, 719P
- F₀F₁ АТРаза, *см. АТФ-синтаза*
- F-бокс белки, регуляция SCF, 1636
- F-типа насосы (АТРазы), 1015–1017, 1017P
- F-элементы, 486Т

- FACS, см. Клеточный сортер с возбуждением флуоресценции (FACS)
- FAD/FADH₂
- окисление жирных кислот, 152P
 - переносчик электронов, 1258–1260, 1260P
 - структура, 155P
 - цикл лимонной кислоты, 154, 1257
- FAK (киназа фокальной адгезии), 1517, 1803P, **1803–1805**
- FAP (семейный аденоматозный полипоз толстой кишки), 1917, 1917P
- Fas, рецепторный белок, 2413, 2448
- Fas-лиганд, 1720, 2413, 2417P, 2448
- FASTA, выравнивание последовательностей, анализ белков, 819
- Fc-область, молекула антитела, 2382P, 2385P, 2387, 2387P, 2393
- Fc-рецепторы, 2387P, **2387**, 2451, 2451P, 2457P
- роль в фагоцитозе, 1209
 - трансцитоз, 1223P
- FerA белок, структура, 979
- FGF, см. Фактор роста фибробластов (FGF)
- FGF8 белок, 2096
- FISH, см. Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH)
- Flamingo белок, 1746, 1748T, 1759, 1778
- FLIP, см. Потеря флуоресценции при фотоотбеливании (FLIP)
- FLP-рекомбиназа, 2060, 2060P
- мишень (FRT), 2060
- Foxp3*, регуляторные Т-клетки, 2418
- FRAP, см. Восстановление флуоресценции после фотоотбеливания (FRAP)
- FRET, см. Резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET)
- Fringe семейство гликозилтрансфераз, 1518
- Frizzled* ген/белок, 2012T
- плоскостная полярность клеток, 1778
 - развитие *C. elegans*, 2023, 2024
 - сигнальный путь полярности, 2076
- FtsZ белок, 1521, 1521PP
- Fugu rubripes*, см. Фугу, рыба (*Fugu rubripes*)
- Fushi tarazu* мутант, *Drosophila*, 2043
- G₀-фаза клеточного цикла, см. Клеточный цикл
- G₁-Cdk, 1633, 1639, **1693–1696**
- G₁-фаза клеточного цикла, см. Клеточный цикл; Контроль клеточного цикла
- G₁-циклины, 1633
- G₁/S-Cdk, 1633, 1639, **1693–1696**
- G₁/S-циклины, 1633
- G₂-фаза клеточного цикла, см. Клеточный цикл
- G₂/M контрольная точка, 1632, 1633, 1639, 1696
- G-белки (тримерные GTP-связывающие белки/АТРазы), 271, **1367, 1514**
- α -субъединица, 1514, 1514P
 - $\beta\gamma$ -комплекс, 1514, 1514P
 - G₁₂, 1514
 - G_i (ингибиторный G-белок), **1514**, 1515T
 - G_{olf}, 1515, 1515T
 - G_o, 1515T
 - G_q, 1515T
 - G_s (стимулирующий G-белок), **1514**, 1515T
 - G_t (трансдукцин), 1515, 1515T
 - активация, 1514, 1514P
 - инактивация, 1514P
 - передача сигнала
 - — сAMP, 1514
 - — инозитолфосфолипидная сигнализация, **1515**
 - — ионные каналы, **1514**
 - сопряжение с рецепторами, см. Рецепторы, сопряженные с G-белками (GPCR)
 - ср. мономерные GTPазы и G-белки, 1373
- GABA, см. ГАМК (γ -аминомасляная кислота)
- GAG, см. Гликозаминогликаны (GAG)
- Gag белки (вирусного капсида), сдвиг рамки считывания при трансляции, 589, 590P, 747P, 2295P, 2331P
- Gal4 ген/белок, 2063P
- распознавание последовательности ДНК, 644T
- GAL4/UAS метод, 2063P
- GAP, см. GTPаза-активирующие белки (GAP)
- Gar-гены, 2037, 2043P, 2043–2045, 2045P
- GARP белки-регуляторы генов, представители семейства в различных эукариотах, 2142T
- GATA1, 644T, 694P, 2228

- Gsp4 белок, 644Т, 652Р, 756–757
 GDI, *см.* Ингибиторы диссоциации гуаниновых оснований (GDI)
 GEF, *см.* Фактор обмена гуаниновых нуклеотидов
 GEMS (близнецы телец Кахаля), 557–559, 560Р
 GFP, *см.* Зеленый флуоресцентный белок (GFP)
Giardia, в древе жизни, 24Р
 GlcNAc-фосфотрансфераза, 1205, 1206Р
 Gli белок, 1518
Gooseberry мутант, *Drosophila*, 2043
 Grp 120 белок, 1174Р
 GPCR, *см.* Рецепторы, сопряженные с G-белками (GPCR)
 GPI-заякоренные белки, *см.* Гликозилфосфатидилинозитольный (GPI) якорь
 Grb-2 белок, **1516**
 GRK, *см.* Рецепторные киназы, сопряженные с G-белками (GRK)
 GroEL шаперон, 600Р
 GSK3, 1518
 GST, *см.* Глутатион-S-трансфераза (GST), белковые маркеры
 GTP (гуанозинтрифосфат, ГТФ), 154
 – структура, 155Р
 – фосфорилирование белков, 269–271
 GTP-кэп, микротрубочки, 1520, 1520Р
 GTP-связывающие белки (GTPазы), **269–275**
 – клеточные регуляторы, 269–271, 271Р, 273Р
 – *см.* фосфорилирование, 273Р
 – мономерные, 271Р, **271–273**, 273Р, 1163–1166, *см. также конкретные GTPазы*
 – *Rab* семейство (докинг везикул), 1166–1168
 – *Ran* GTPаза, **1088–1089**, 1089Р, 1091Р
 – *Ras* семейство, *см.* *Ras* GTPазы
 – *Rho* семейство, *см.* *Rho* GTPазы
 – Sar1 (сборка каймы везикулы), 1164
 – *см.* тримерные (G-белки), 1373
 – обеспечение движения, 271–275, 275Р
 – регуляция, 271, 273Р, *см. также* GTPаза-активирующие белки (GAP); Фактор обмена гуаниновых оснований (GEF)
 – тримерные, *см.* G-белки (тримерные GTP-связывающие белки/АТФазы)
 GTPаза, *см.* GTP-связывающие белки (GTPазы)
 GTPаза-активирующие белки (GAP), 271, 273Р, 1373, 1373Р
 GTPазы, рекрутирующие оболочку, **1163–1166**, *см. также* GTP-связывающие белки (GTPазы)
 H⁺ (протон), *см.* Ион водорода (H⁺, протон)
 H⁺-насос, *см.* Протонные насосы
 H-цепи, *см.* Тяжелые цепи (H-цепи) антител *Haemophilus influenzae*, последовательность генома, 848–849
Hairy ген, 2043, 2096
Halobacterium salinarum, 986Р, **986–988**
Haloferax, в древе жизни, 24Р
 Нармар, *см.* Карта гаплотипов
 НАТ, *см.* Гистонацетилтрансферазы (НАТ)
 HDAC, *см.* Гистондеацетилазы (HDAC)
 HDV-фолд, 624Р
 Hedgehog белок, 1518
 Hedgehog сигнальный путь, 1518
 – *Drosophila*, 2048, 2067, 2067Р
 – в кишечнике, 2205
 – в коже, 2182
 – отсутствие в *Arabidopsis*, 2142
 – развитие животных, 2012Р
Helicobacter pylori
 – колонизация желудка, 2303
 – причина рака желудка, 1881, 1883
 – размер генома, 27Т
 – хроническая болезнь, 2299
 Her2 белок, в терапии рака, 1927
Hes1 ген, 2096
 HIF1, *см.* Индуцируемый при гипоксии фактор 1 (HIF1)
HIS ген, *Saccharomyces cerevisiae*, 438Р
Histoplasma capsulatum, 2288, 2288Р
 HIV, *см.* ВИЧ (вирус иммунодефицита человека, HIV)
 HLA (человеческий лейкоцитарный антиген), *см.* МНС (основной комплекс гистосовместимости)
 HLA-DM белок, 2149
 HNPCC, *см.* Наследственный неполипозный колоректальный рак (HNPCC)
 hnRNP, 542Р, 550
Homo sapiens, *см.* Человек (*Homo sapiens*)

- Нох гены, 2055, 2070
 НОХ код, определение передне-задней оси, **2051–2056**
 Нох комплекс
 — определение передне-задней оси, **2051–2056**
 — последовательная экспрессия генов, 2052–2053
 — профиль экспрессии у *Drosophila*, 2052P
 — сравнение насекомых и млекопитающих, 2056P
 — экспрессия у мышей, 2056P
 НохВ комплекс, экспрессия у мышей, 2056P
 NS4 белок, 347–349
 hsp40 белки, 600P
 Hsp60 белок, 597, 598
 Hsp60 белок, импорт белков в митохондрии, 1101
 Hsp70 белок, 597, 598, 600P
 Hsp70 белок, митохондриальный транспорт белков, 1099, 1100P, **1101**
 НТН-мотив, см. Спираль-поворот-спираль, мотив
 Hunchback белок, активация гена *eve*, 691P, 690–693
Hydra, бесполое размножение, 1941, 1941P
 IκB белок, **1518**
 IκB киназа (ИКК), 1518
 I-клеточная болезнь (болезнь клеточных включений), 1205–1206
 ICAM, см. Межклеточные белки клеточной адгезии (ICAM)
 IFN, см. Интерферон
 IgA, см. Иммуноглобулин А
 IgD, см. Иммуноглобулин D
 IgE, см. Иммуноглобулин E
 IgM, см. Иммуноглобулин M
 Иног белок, 1518
 IL, см. Интерлейкин(ы)
In vitro, определение, 777–779
In vivo, определение, 777–779
 Indian hedgehog белок, 1518
 IP₃, см. Инозито-1,5-трифосфат (IP₃)
 IPSP, см. Тормозной постсинаптический потенциал (IPSP)
 IRES, см. Участок внутренней посадки рибосомы (IRES)
 IS1 транспозоны, 486T
Islet ген, 2118
 J-цепь
 — IgA, 2388P
 — IgM, 2385, 2387P
 Jak (янус-киназа), **1517**
 Jak-STAT сигнальный путь, **1517**, 1517P
K-Ras ген, 1915–1916, 1916T, 1920
 KDEL последовательность, возвратный путь ЭР, 1180
 Kit белок, 2102, 2231, 2231P
 KKXX последовательность, возвратный путь ЭР, 1180
Krüppel мутант, *Drosophila*, 2043
 Krüppel белок, 644T, 691P, 690–693
 Kringle домен, 210P, 212
 L-селектин, 1759, 2379, 2379P
 L1 элементы, см. LINE (L1) элементы
Lac-оперон (*Escherichia coli*), 12P, 640, 644T, см. также Репрессорные белки
 — мутации, 405
 — переключение двумя сигналами, 671P
 — петлеобразование ДНК, 674
 — регуляция гена *lac*, 12P, 671P
 — — *lac*-репрессор, см. *Lac*-репрессор
 — — активация CAP, 644T, 646P, 671
Lac-репрессор, 12P, 640, 644T, см. также Репрессорные белки
 — открытие, 640
 — синтетическая биология, 710P
 — узнавание последовательности ДНК, 644T
Lakritz мутант, 855
Lck, 2428, 2442P, см. также Src семейство тирозинкиназ
 LCR, см. Локус-контролирующая область (LCR)
 LDL, см. Липопротеины низкой плотности (LDL)
 LEF1/TCF белки-регуляторы генов, 1518
Lefty1 ген, 2105
Legionella pneumophila
 — передача, 2311
 — проникновение в клетки хозяина, 2311, 2311P
 — стратегия против мембранного транспорта хозяина, 2316P, 2317P, 2317–2318

- Let7* ген, 2028
- LexA белок, слияние доменов, 680P
- LFA1 (ассоциированный с функцией лейкоцитов белок 1), 1799T
- Lim* ген, 2118
- Lin14* ген, 2026P
- Lin4* ген, 2026
- LINE (L1) элементы, 486T, 491–492, 492P, *см. также* Повторы ДНК
- *ср.* геномы человека и мыши, 494P
- человеческий геном, 318P
- Listeria monocytogenes*
- выход из фагосомы хозяина, 2316P, 2316–2317
- движение, опосредованное актиновыми нитями, 2320, 2321P, 2323, 2323P
- проникновение в клетку хозяина, 2311, 2317P
- разрушение фагосомальной мембраны, 2317P, 2317–2318
- рецепторы, 2311
- секреция и действие листериолизина O, 2316–2317
- Lkb1* ген/белок, эпителиальная апикально-базальная полярность, 1773–1775, 1775P
- Lox элемент рекомбинации, *см.* Cre/Lox система
- LRR (белки с повторами, обогащенными лейцином), 1518P, **1518**
- M-Cdk, 1633, 1639
- активация дефосфорилированием, 1650P, **1650–1651**
- вход в митоз, **1646, 1650**
- динамика микротрубочек и, 1658
- роль в сборке веретена деления, **1655–1656**, 1656P, 1658
- M-фаза клеточного цикла, *см.* Клеточный цикл
- M-циклины, 1633, 1636, 1650, 1670, 1691
- M6P, *см.* Маннозо-6-фосфат (M6P)
- Mad2 белок, контрольная точка сборки веретена деления, 1672, 1672P
- MADS регуляторные белки, 2142T, 2161
- MALDI-TOF масс-спектрометрия, 801–803
- MAP, *см.* Ассоциированные с микротрубочками белки (MAP)
- MAP-киназный сигнальный путь, **1516**, 1516PP, 1693, *см. также конкретные компоненты*
- MAP-киназы, **1516**, 1516PP, 1517P, *см. также* Ras GTPазы
- Erk, 1516, 1516P
- влияние EGF, 1516P
- влияние NGF, 1516
- предшественников нервных клеток, 1516
- растений, 1519
- эволюция, 267P
- MAP2 белок, 1525P, 1535, 1535P
- Mata1 белок, 702
- Mata2 белок, 644T, 654P, 702
- Mbl белок, 1521, 1521P
- Mcm белки, 445P, 702P, 1642
- Mdm2 белок, 1696, 1697P, 1699
- Mef2* гены/белки, 715P
- Mek киназа, 1516P
- MERRF, 1327
- Methanobacterium*, 24P
- Methanococcus*, 24P, 27T
- MHC (главный комплекс гистосовместимости), 2137P, 2421P, **2410–2441**
- MHC класса I, 2420, **2423–2424**, 2427T, 2428–2430, 2457P
- неклассические, 2423
- подтипы, 2421P
- связывание пептидов, **2428–2430**, 2431P
- структура, 2421P, 2423–2424, 2424, 2425P
- узнавание корцептора, 2427–2428, 2428P
- узнавание корцепторами, 2428P
- узнавание натуральными киллерами, 2354–2355
- экспрессия в зараженных вирусом клетках, 2354–2355
- MHC класса II, 2420, **2423–2424**, 2427T, 2428P, 2431, 2457P
- подтипы, 2421P
- связывание пептидов, **2431–2434**
- структура, 2421P, 2423
- узнавание корцепторами, 2428P
- узнавание корцепторов, 2428, 2428P
- антигены H-2 (гистосовместимости-2), 2420

- бороздка специфичности, 2423–2424, 2425P
- взаимодействие с Т-клетками, 2410–2441
- гены человека, 2423P, 2439
- дендритные клетки, 2413
- инвариантная бороздка, 2424, 2425P
- полиморфизм, 2421, 2439
- реакции на трансплантат, **2420–2421**
- рестрикция, 2149, 2428, 2433–2434
- рестрикция класса, **2425–2427**
- связывание пептидов, 2418P, **2423–2425**, 2425P, 2427P, *см. также* Белок-белковые взаимодействия
- селекция Т-клеток, 2434–2436
- Miranda белок, 2079
- Mismatch-репарация, *см.* Исправление ошибки спаривания (mismatch-репарация)
- MLCK (киназа легких цепей миозина), 1570, 1572P, 1580
- Mot (more mesoderm, больше мезодермы) мутанты, 2024
- MreB белок, 1521
- Mrf4 белок-регулятор генов, 715
- MTOR, протеинкиназа, 1517, 1517P
- MutH белок, 425P
- MutL белок, 425P
- MutS белок, 425P
- Mub белки-регуляторы генов, 2142T
- Mus ген/белок, 1518
 - активация митогенов и, 1693
 - активация хромосомной транслокации, 1897
 - амплификация при раке, 1895P
 - как онкоген, 1699, 1895–1897, 1901, 1901P
 - лимфома Беркитта, 1897
- Mycobacterium tuberculosis*, 2277
 - выживание, 2310–2311
 - мембранный транспорт клетки хозяина и, 2317, 2317P
 - передача, 2310
 - размер генома, 27T
 - созревание фагоцитов, 2317
 - фагоцитоз и выживание внутри фагоцитирующих клеток, 2310–2311
- Mycoplasma genitalium*, **14**, 17P, 27T, 875–877
- Mycoplasma*, 21P, 2299
- MyoD ген, 715P
 - MyoD белки-регуляторы генов, 644T, 715, 715P, 2239
 - N-ацетилнейраминавая кислота, *см.* Сиаловая кислота (NANA)
 - N-гликаназа, деградация неправильно свернутых белков, 1136P
 - N-WASp, движение патогенов, 2323, 2323P
 - N-Ацетилнейраминавая кислота, 968P, 1187P, 1189P
 - N-кадгерин (нейронный кадгерин), 1745, 1748T, 2123
 - N-конца правило, *см.* N-концевая деградация
 - N-концевая деградация, 608–609
 - N-связанные олигосахариды
 - гликозилирование белков, 1133, 1191P
 - роль в фолдинге белков, 1135P
 - синтез, 1187P, 1187–1189
 - трехмерная структура, 1193P
 - NAC белки-регуляторы генов, 2142T
 - NADH-дегидрогеназный комплекс, 1279, 1281P, 1285
 - NADH/NAD⁺, 123, 129–131, 145P
 - гликолиз, 140, 145, 146P
 - образование, 1260–1262
 - образование из пирувата, 151
 - функциональные роли, 131
 - цикл лимонной кислоты, 154, 1257
 - электронный переносчик, 129–131, 1258P, 1258–1262, *см. также* NADPH/NADP⁺
 - NADPH-оксидаза, белковый комплекс, 2350
 - NADPH/NADP⁺, 123, 129P, 129–131
 - фотосинтез, 148
 - нециклическое фосфорилирование, **1305–1310**
 - фиксация углерода, 1298, 1298P
 - эволюционное значение, 1336
 - функциональная роль, 131
 - электронные переносчики, 129P, 129–131
 - Nanos белок, 1961, 2037P, 2039, 2039P
 - NCAM (молекула адгезии нервных клеток), 2123
 - Neisseria gonorrhoeae*, 32, 702
 - Neisseria*, 2329
 - Neurospora*, определение гена, 1323
 - NFκB белки, **1518**, 1518P, 2346
 - NGF, *см.* Фактор роста нервов (ФРН, NGF)

- NK-клетки, см. Натуральные (естественные) киллеры (NK)
 NMDA-рецепторы, **1061–1063**
 NO-синтаза, **1361P**, **1361**
 NOD белки, 2348–2350, 2355
 Nodal белок, 2104–2105
 Noggin белок, 1517, 2012T
 Notch рецепторный белок, 1193, 1518, 1518P, 2071–2074
 Notch сигнальный белок, ранний зародыш *C. elegans*, 2023
 Notch сигнальный путь, 1518
 — *Arabidopsis*, отсутствие, 2142
 — ангиогенез, 2217
 — в коже, 2182
 — в конечностях позвоночных, 2070
 — в нейрогенезе, 2077P, 2077P, 2077–2079
 — в развитии сенсорного волоска, 2071P, 2071P, 2071–2074, 2074PP, 2074, 2074PP
 — в разных тканях, 2081
 — дифференцировка клеток кишечника, 2202P, 2202P, 2202–2203
 — на кромке крыла *Drosophila*, 2066, 2066P
 — поджелудочная железа, 2209
 — развитие животных, 2012P
 — эндотелиальные клетки, 2216
Noxa, апоптоз, 1725
 NPC, см. Ядерные поровые комплексы (NPC)
 NSF, 1173, 1173P, 1179P
 NtrC регуляторный белок, петлеобразование ДНК, 674P
 Numb белок, 2074, 2076P

 O-связанные олигосахариды, гликозилирование белков, 1133, 1191, 1191P
 Oct1 Pou доменный белок, 644T, 654P
 Ora семейство мембранных белков, *Neisseria*, 2329
 ORC, см. Комплекс узнавания точки начала репликации (ORC)
 Osteogenesis imperfecta, 1820
 OXA комплекс, 1099, 1103, 1103P

 P₂, клетки зародыша *C. elegans*, 2023PP, 2023–2024
 P-гранулы, 2021, 2021P
 P-кадгерин, 1745, 1748T
 P-сайт (связывание рибосом), 575P, 576
 P-селектин, 1759–1761
 P-типа насосы (АТРазы), 1015, 1017P, см. также Кальциевый насос; Натриево-калиевый насос (АТРаза)
 P-элементы, 486T, 741, 855
p16 (INK4) SKI белок, в раке, 1902
p16 (INK4) SKI белок, в раке, 1902
p21 ген/белок, 1696, 1697P, 1907
p53 ген/белок
 — Mdm2 белковые взаимодействия, 1696
 — апоптоз, 1725, 1730
 — избыточная экспрессия мутантных форм, 1907
 — модификации, 285P
 — опухолевый супрессор, мутации при раке, 1697, 1730
 — — инактивация белками онкогенных ДНК-вирусов, 2324–2326
 — — лечение недостатка в терапии рака, 1923
 — — рак толстой и прямой кишки, 1915–1916, 1916T, 1916, 1916T
 — остановка клеточного цикла в ответ на укорочение теломера, 1866
 — режимы работы, 1907, 1907P
 — связывание ДНК, 644T, 651, 652P
 — точка проветки повреждения ДНК, 1696, 1697P
 Pair-rule гены, 2037, 2043P, **2043–2045**, 2045
 PAPS, см. 3'-фосфоаденозино-5'-фосфосульфат (PAPS)
Par гены/белки, эпителиальная апикально-базальная полярность, 1775P, 1773–1776, 1776P, 1776, 1776P, см. также конкретные гены/белки
Par3 ген/белок, эпителиальная апикально-базальная полярность, 1775–1776, 1776P, 1776, 1776P
Par3/Par6/aPKC комплекс, клеточное деление нейробластов, 2079
Par4 ген/белок, эпителиальная апикально-базальная полярность, 1773–1775
Par6 ген/белок, эпителиальная апикально-базальная полярность, 1775–1776, 1776P, 1776
Paramecium, в древе жизни, 24P
ParM белок, 1521, 1521P
 Patched белок, 1518P, **1518**

- Рах3, 2239
 Рах6 (и гомологи), развитие глаза, 719, 719P
 Рах7, 2239
 PCNA белок, 421P
 PDGF, см. Тромбоцитарный фактор роста (PDGF)
 PDI, см. Протеиндисульфидизомераза (PDI)
 PDZ-домены, скэффолд белки, 1764
Per ген часов, 712P
 Pег белок, 712P
 pH, 80, 174P, см. также Кислоты; Основания (химические соединения)
 — внутриклеточный, 918
 — градиент, 1262–1263, 1263P
 PH-домен, см. Домен гомологии к плекстрину (PH-домен)
 PI, см. Фосфоинозитол (PI)
 PI3-киназа, см. Фосфатидилинозитид-3'-киназа (PI3-киназа)
 PKC, см. Протеинкиназа C (PKC)
Plasmodium falciparum, 2288–2290, см. также Малярия
 — жизненный цикл, 2290P, 2301
 — изменчивость антигенов, 2327
 — меняющаяся со временем транскрипция, 2290P
 — митохондриальная ДНК, 1318
 — передача и вектор, 2288–2290, 2300–2301
Pneumocystis carinii, изменчивость антигенов, 2327
 Pol белки, трансляционный сдвиг рамки считывания, 589, 590P
 Polo-подобные киназы, 1650
 Polycomb группа, 2053, 2055P
Pop (posterior pharynx, задняя глотка), мутанты, 2024
 Pop1 белок-регулятор генов, 2024
Porphyromonas gingivalis, хроническое заболевание, 2299
 Pou-домен, структура, 654P
 Presenilin, 1518
 Prospero белок, 2079
 Prox1 белок, 2216
Pseudomonas aeruginosa, 2283
 РТВ-домен (фосфотирозин-связывающий домен), 1514, 1514P, 1516
 PTEN фосфатаза (опухольный супрессор), 1517
Puma, апоптоз, 1725
 Q-цикл, 1283–1285
 R-гена продукт, 2333, 2335P
 Rab GTPазы, 1166–1168, 1168T
 Rab эффекторы, 1168P, **1168**
 Rab5, 1169, 1169P
 Rac GTPазы, 1516
 — активация, роль микротрубочек, 1601
 — влияние на организацию актина, 1599P, 1606–1607
 — наведение конуса нарастания, 2122
 — эпителиальная апикально-базальная полярность, 1773P, 1775
 Rad51 белок, 492P, см. также RecA белок
 Rad52 белок, 488, 488P
 Raf киназа (киназа киназы MAP-киназы), 1516, 1516P, 1897
 RAG белок, **2399**, 2401, 2401P, 2458
 Ran GTPазы
 — Ran GTPаза-активирующий белок (Ran-GAP), 1088
 — компарментализация, 1089P
 — фактор обмена гуаниновых нуклеотидов Ran (Ran-GEF), 1088
 — формирование веретена деления, 1659
 — ядерный транспорт, **1088–1089**, 1089P, 1091P
 Ran-GAP, 1088
 Ran-GEF, 1088
 Ran-GTP, 1092
Ras ген, 1699, **1888–1890**, 1900, 1901, 1901P
 Ras GTPазы, 271, 273P, **1516**, 1517P
 — активация MAP-киназного пути, 1516P
 — активация PI3-киназы, 1517
 — активация митогенами, 1693
 — активные и неактивные формы, 275P
 — как онкоген, 1699
 — мутации при раке, 1699, **1888–1890**, 1900
 — нормальные белки Ras, 1890
 — регуляция, GEF, 1516, 1516P
 — структура, 273P
 Ras-MAP-киназный сигнальный путь, **1516**, 1516P, 1693, 1803
Rb (ретинобластома) ген/белок
 — контроль клеточного цикла, 1695P, 1693–1696, 1904P

- нокаут у мышей, 1901
- пути потери, 1893P
- рак, 1695–1696, 1890, 1891
- регуляция фосфорилированием, 1695
- RecA белок
 - белок-ДНК взаимодействия, 492P
 - гомологи, 488, 488P, 492P, 492
 - BrcA1/BrcA2 белки, 480
 - гомологичная рекомбинация, 492, 492P, 496
 - синапсис, 488, 492P, 492
- Reclinomonas*, 1322
- Rev белок, транспорт мРНК ВИЧ, 747, 747P
- RGD-последовательность, связывание интегринов и фибронектинов, **1828**
- Rho GTPазы
 - RhoA, см. RhoA GTPазы
 - мономерные, 1516, 1599–1601
 - наведение конуса роста, 2122
 - организация актина, 1599P, **1598–1604**
- Rho-GEF, 1681
- RhoA GTPазы, **1679–1681**, 1681P, 1805
- RhoC* ген, метастазы, 1911
- RISC (РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга), 762, 762P
- Rickettsia prowazekii*, размер генома, 27T
- Rickettsia rickettsia*, движение за счет актина, 2321–2323
- RITS (РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга транскрипции), 766
- Rock киназа, 1681
- Roundabout рецепторный белок, 2123P, 2125
- RTK (тирозинкиназные рецепторы), см. Тирозинкиназные рецепторы (RTK)
- RuvA, структуры Холлидея, 477P
- RuvB, структуры Холлидея, 477P

- S-Cdk, 1639, **1640–1643**
- S-S связи, см. Дисульфидные связи
- S-фаза клеточного цикла, см. Клеточный цикл
- S-циклины, 1633, 1636, 1670
- S. cerevisiae*, см. *Saccharomyces cerevisiae*
- S. pombe*, 849
- S1 фрагмент, миозин, 1553
- S6 киназа (S6K), 1700
- Saccharomyces cerevisiae*
 - *His* ген, 438P
 - актин, взаимодействие с другими белками, 1521, 1521P
 - геном, 440–442, 442P, 849
 - грушевидная форма (shmoo), 1603, 1603P
 - как модельный организм, 440–442, 1324
 - карты взаимодействия белков, 286, 289P
 - клеточный цикл, 1624P, 1624–1626
 - мутанты, 442
 - поляризация клетки, 1603
 - репликация ДНК, 440–442, 442P
 - роль цитоскелета, полярность клеток, 1520
 - структура центромеры, 350, 350P
- Saccharomyces pombe*, геном, секвенирование, 849
- Salmonella enterica*, 2283
 - островки патогенности, 2283P
 - проникновение в клетки хозяина, 2311, 2313P
 - распространение, 2326
 - стратегия против мембранного транспорта хозяина, 2316P, 2317, 2317P
 - фагоцитоз, 2351
- Salmonella*, фазовая вариация, 699–701, 701P
- SAM комплекс, **1099**
- Sar1 белок, формирование окаймленных пузырьков, 1164, 1164P
- Schistosoma haematobium*, рак мочевого пузыря, 1881
- Schizosaccharomyces pombe*, 35P, 1624P, 1624–1626
- Scribble комплекс, эпителиальная апикально-базальная полярность, 1775, 1776P
- SDF1, 2102
- SEM, см. Сканирующая (растровая) электронная микроскопия (SEM)
- Sepallata*, мутант *Arabidopsis*, 2161
- Sev белок, *Drosophila*, 1516
- Sevenless* мутант, *Drosophila*, 1516
- Sex-lethal (Sxl)* ген, определение пола *Drosophila*, 742, 743P
- SH2-домен (домен Src-гомологии 2)
 - белки клеточной сигнализации, 1514, 1514P, **1516**, 1516P, 1517
 - Src семейство, 269, 269P
 - STAT, **1517**, 1517P
 - взаимодействие «поверхность-нить», 235, 235P

- регуляторная роль, 269, 269P
- структура, 198, 200–201, 205P, 212, 217P
- фосфорилирование белков, 264
- эволюционный след, 234, 234P
- SH3-домен (домен Src-гомологии 3), 1514, 1514P, 1516, 1517
- регуляторная роль, 269, 269P
- структура, 205P, 212
- Shigella flexneri*, 2283
- движение за счет актина, 2323, 2323P
- плаزمида вирулентности, 2283P
- устойчивая к антибиотикам, 2338
- Shmoо, 1603, 1603P
- Sic1 белок, 1691
- Sidekicks белки, формирование синапса, 1762
- SINE (короткие рассеянные элементы), 318P, 492
- SIV, см. Вирус иммунодефицита обезьян (SIV)
- SL РНП, 542–544, 544P
- Slit белок, 2123P, 2125
- Slug* ген/белок, эпителиально-мезенхимальный переход, 1753
- Smad семейство, **1517**, 1517
- Smad-зависимый сигнальный путь, 1517P
- Smad4* ген, рак толстой и прямой кишки, 1920
- SMC белки, 371, 373P, 1645
- SMN (выживание двигательных нейронов) белок, 559–560
- Smoothened белок, **1518**
- Snail* ген/белок, эпителиально-мезенхимальный переход, 1753
- SNARE белки
 - SNARE везикул, 1169–1171, 1171P
 - SNARE мембраны-мишени, 1169–1171, 1171PP
 - взаимодействие с Rab-эффекторами, 1168
 - мишень токсина столбняка, 1171
 - направление везикулярного транспорта, **1166**
 - разборка, 1173P, **1173**
 - слияние мембран, 1171P, 1169–1173, 1178, 1179P
- SnоPHK, 554
 - локализация в ядре, 560P
 - транскрипция, 522T
- функция, 516T, 556P
- SnPHK, 536–538, см. также Сплайсосома
 - SL snPHK, 544P
 - U1 snPHK, 536, 539, 541
 - U2 snPHK, 536, 541
 - U4 snPHK, 536
 - U5 snPHK, 536, 541
 - U6 snPHK, 536, 539, 541, 557
 - белковые комплексы (snРНП), см. SnРНП
 - каталитические функции, 539
 - локализация в ядре, 559, 560P
 - транскрипция, 516, 522T
 - функция, 516T, см. также Сплайсинг snРНП, 536–538, см. также SnPHK; Сплайсинг
 - AT-AC сплайсосома, 544P, **544–545**
 - SL РНП, 542–544, 544P
 - U1 snРНП, 538P, 539, 539P
 - U2 snРНП, 538, 539P
 - U4 snРНП, 538P
 - U4/5/6 тройной snРНП, 538P
 - U5 snРНП, 538, 539P
 - U6 snРНП, 538, 539P
 - сборка, 557
 - РНК-РНК перегруппировки, 539–541
 - механизм сплайсинга, 538P, 541
 - рециркуляция, 559
 - сборка, 560P
 - функция, 516T
- So* (*sine oculis*) ген, 719P
- Sog* ген, 2040
- Son-of-sevenless* мутант, *Drosophila*, 1516
- Sonic Hedgehog белок, 1518
- SOS-репарация, 476, см. также Репарация ДНК, 480–10000
- Sox9* ген/белок, развитие семенников, 1964
- Sp1 белок, узнавание последовательности ДНК, 644T
- Spiroplasma*, 21P
- Spisula* развитие, анализ клеточного цикла, 1627
- Spo11, специфичный для мейоза белок, 1957
- SPR, см. Поверхностный плазмонный резонанс (SPR)
- SR белки, 541, 542
- Src белок
 - регуляция, 269, 269P
 - структура, 205, 205P, 269P

- функциональная роль, 269, 271P
- Src семейство тирозинкиназ, 151P
- Src, см. Src белок
- делеции, приводящие к раку, 1887
- мембраны, 972
- регуляция, 269, 269P
- структура, 269P
- эволюция, 267P
- Src-гомология, домен 2, см. SH2-домен (домен Src-гомологии 2)
- Src-гомология, домен 3, см. SH3-домен (домен Src-гомологии 3)
- Src-подобная киназа, В-клеточная сигнализация, 2451P
- SRP, см. Сигнал-узнающая частица (SRP)
- Sry ген/белок, **1961–1964**, 1964, 1965P
- SSB (белки, связывающие одноцепочечную ДНК)
 - белки репликации ДНК, 418, 419P, 423P
 - кооперативность, 418, 419P
 - роль в гибридизации ДНК, 496
 - структура, 421P
 - эукариотические, 429
- Staphylococcus*, путь заражения, 2300
- Steel фактор, 2102
- STI-751 (Гливек), лечение хронического миелоидного лейкоза, 1928
- Streptococcus*, 21P, 2300
- Sulfolobus*, древо жизни, 24P
- SV40, капсид, 225P
- Сук киназа, В-клеточная сигнализация, 2451P
- Synechocystis*, размер генома, 27T
- SCF ферментный комплекс, 280–281, 281P, 1636, 1637P, 1639T
 - карты взаимодействия белков, 286, 289P
- T_C, см. Цитотоксические Т-клетки (T_C)
- T_H, см. Т-хелперы (T_H)
- T_H17 клетки, 2448
- T-SNARE, см. SNARE белки, SNARE мембраны-мишени
- Т-клеточные рецепторы, **2411–2413**, 2427P, 2457P
 - γ -цепь, 2413
 - взаимодействия белок МНС/антиген, 2418P, 2423–2425, 2425P, 2427P
 - презентация антигена, 2442
 - сборка в ЭР, 1178
 - связывание комплекса CD3, 2442P
 - сигнальная функция, 2442P
 - ср. В-клеточный рецептор, 2449–2451
 - структура, 2411P, 2411–2413
- Т-сегменты, *Drosophila*, 2031
- T4 бактериофаг, 32P
- T7 полимеразы, коррекция, 411
- Tam3 транспозон, 486T
- Tap-tagging, 796–797
- Tag структура РНК, роль в аттенуации транскрипции, 737
- Tat белок, аттенуация транскрипции, 737
- TATA-бок
 - консенсусная последовательность, 525P
 - локализация, 522
 - связывание факторов транскрипции, 522–523, 523P, 525P
- TATA-связывающий белок (TBP), 522, 523PP, 525P
- Тау белок, 1525P, 1535, 1537P
- TBP, см. TATA-связывающий белок (TBP)
- TCF4 белок-регулятор гена, рак толстой и прямой кишки, 2202
- TCP-I шаперон, 600P
- ТЕМ, см. Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЕМ)
- Teosinte branched-1 (Tb1)* ген, 2157
- Tet репрессор, синтетическая биология, 710P
- TFII факторы транскрипции, см. Факторы транскрипции, общие (TFII)
- TFIIH факторы транскрипции, 522–523
- TGF β суперсемейство, см. Трансформирующие факторы роста β (TGF β) семейство
- Thermofilum*, древо жизни, 24P
- Thermogota maritima*, 14P, 27T
- Thermomicrobium*, древо жизни, 24P
- Thy1 белок, 2457, 2457P
- Tim ген часов, 712P
- TIM комплекс, **1097–1099**
 - митохондриальный импорт белков, механизм, 1100P, 1100–1101, 1103P, 1104
 - связь с мембраной, 1097P
- TIM23, 1103
- Timeless белок, 712P
- TIRF, см. Микроскопия флуоресценции полного внутреннего отражения (TIRF), см. Флуоресцентная микроскопия

- Tjp семейство белков, 1772
 Tn3 транспозоны, 486Т
 TNF α , *см.* Фактор некроза опухоли α (TNF α)
 Toll-подобные белки, **2346–2348**
 Toll-подобные рецепторы (TLR), 2346P,
 2346–2348, 2365
 – активация, 2351–2352
 – воспалительная реакция, 2351–2352
 – дендритные клетки, 2348, 2355
 ТОМ комплекс, 1097P, **1097–1099**, 1100P,
 1100–1101, 1103P
Toxoplasma gondii
 – коноид, 2313
 – мембранный транспорт клетки хозяина,
 2317
 – проникновение в клетку хозяина, 2313,
 2314P
 – структура, 2280P
 – формирование и размножение в вакуоли,
 2313, 2314P
Toy (Twin of eyeless) ген, 719P
Transformer (Tra) ген, определение пола
Drosophila, 742, 743P
Treponema pallidum, 21P
 – размер генома, 27Т
Trichomonas, древо жизни, 24P
Trithorax, группа белков, 2053
 Trk A, 1516Т
 TrkA рецепторный белок (рецептор ФРН),
 2126
Trypanosoma brucei, 2301, 2327P, 2329
Trypanosoma cruzi, 2313, 2316, 2316P
Trypanosoma, 24P, 544, 544P, 744, 746P
 TUNEL метод, апоптозные клетки, 1716,
 1717P
Twist ген/белок, 1753, 2040
 Ty1 ретротранспозон, 486Т

 U1 snRNP, механизм сплайсинга, 538P
 U2 snRNP, механизм сплайсинга, 538P
 U2AF сплайсосомальный белок, 538P
 U4 snRNP, механизм сплайсинга, 538P
 U6 snRNP, механизм сплайсинга, 538P
 UAS (вышележащая активирующая последо-
 вательность), 2063P
Unc гены, 2123
Unc5 рецептор нетрина, 2125
Unc5H, рецептор нетрина, 2125
Unc6 ген, 2123
 uORF (расположенные левее открытые рам-
 ки считывания), 756
 UTR, *см.* Нетранслируемые области (UTR)
 V(D)J соединение, **2401–2404**
 – контроль, **2403–2404**
 – сигнальные последовательности рекомби-
 нации, 2399P
 – *ср.* переключение класса, 2408
 V(D)J-рекомбиназа, **2401**
 V-SNARE, 1169–1171, 1171P
 V-типа насосы (АТРазы), 1017
 Vasa семейство белков, 1960
 VCAM (белки адгезии клеток сосудов), 1761
 VE-кадгерин, 1748Т, 1759
 VEGF, *см.* Фактор роста эпителия сосудов
 (VEGF)
Vibrio cholerae, 21P
 – CTX ϕ бактериофаг, 2285P
 – бактериофаг, 2283
 – гены вирулентности, 2283
 – карта генов, 2285P
 – колонизация кишечника, 2303
 – пандемия, 2283
 – структура, 2280P
 – токсин, *см.* Холера, токсин
 – хромосома, 2285P
 VNTR (локусы с варьирующимся числом
 тандемных повторов), 843P
Volvox, 775P

 WASp семейство, 1601, 2323, 2323P
 Wee1 киназа, 1635, 1650, 1650P
Wingless (Wg) ген/белок, 2067, 2067P, *см.*
также Wnt сигнальный путь
 – в конечности позвоночного, 2070
 – в сегментации *Drosophila*, 2048
 Wingless сигнальный путь, *см.* Wnt сигналь-
 ный путь
 Wnt сигнальный путь
 – β -катенин, **1518**, 1518P
 – в коже, 2182
 – в костном мозге, 2231
 – межклеточная адгезия и, 1759
 – отсутствие у *Arabidopsis*, 2142
 – плоскостная поляриность клеток, 1778

- поддержание популяции стволовых клеток в кишечнике, 2200–2205
- развитие животных, 2012P
- рак толстой и прямой кишки, 1917
- Wolbachia*
- вертикальное распространение, 2324, 2326
- лечение инфекции, 2326
- модификация поведения хозяина, 2326
- опосредованное микротрубочками движение, 2324, 2324P
- WRKY (цинковый палец) белки-регуляторы генов, семейство, представители в различных эукариотах, 2142T
- Wuschel белок, 2155, 2155P

- X-инактивация, 730P, 731P, **730–732**, см. также Сайленсинг генов; Геномный импринтинг
- варианты гистона H2A, 731–732
- варианты гистона H3, 732
- варианты гистона H4, 732
- компенсация доз генов, 730, 732–734
- механизм, 438, 730P, 730–732
- мозаика, 1854P
- случайный выбор хромосомы, 730–731
- тельце Барра, 730
- X-хромосома, 310, 730, 1944, 1962
- инактивация, см. X-инактивация
- конъюгация в мейозе, 1950
- Xenopus laevis*, 56, 56P
- видовые различия, 55–56
- развитие, см. *Xenopus laevis* развитие
- удвоение генома, 55–56
- Xenopus laevis* развитие, 2083P
- гастрюляция, 2086P, 2088P, **2086–2090**, 2090P
- изменение упаковки клеток (конвергентное растяжение), **2091–2093**, 2093P
- контролирующие сигналы, 2090
- перемещения клеток, 2086P, 2088P, **2086–2090**, 2090P
- зародыш
- анализ клеточного цикла, 1626P, 1626–1627
- дробление, 1627P
- перемещения клеток во время развития, 2083
- эффекты блокирования сигнализации Notch, 2077P
- яйцо, 2084P
- бесклеточные системы, 1627, 1627P
- динамика микротрубочек во время митоза, 1658, 1659P
- оплодотворение, 1626
- рост, 1627P
- Xenopus ruwenzoriensis*, 56
- Xenopus tropicalis*, 56, 56P
- XIC (центр инактивации X-хромосомы), 731
- XIST-РНК, 730P, 731
- XMAP215, формирование микротрубочек, 1525P, 1540, 1540P
- Xpd* ген/белок, нокауты мышей, 872P

- Y-хромосома, 310, 730, 1944, 1962
- *Sry* ген, 1962
- конъюгация при мейозе, 1950
- YAC, см. Дрожжевые искусственные хромосомы (YAC)
- Yersinia pestis*, 2301, 2301P, 2329
- Yersinia pseudotuberculosis*, 2311, 2329

- Z-диск, 1574, 1575P
- Z-кольцо, формирование при делении клеток, 1521, 1521P
- Z-схема (фотосинтез), 1308
- Zar70 тирозинкиназа, 2442P
- ZO-белки, 1772
- Zona pellucid, 1967, 1968P, 1973P, 1983, 1983P, 1986
- ZP1 гликопротеин, 1983
- ZP2 гликопротеин, 1983, 1986
- ZP3 гликопротеин, 1983, 1986

- A-участок (связывание рибосом), 575P, 576
- АКТГ (адренокортикотропный гормон), 1233P, 1514T
- Абортивная инициация транскрипции, 517P
- Авогадро число, 68–69
- Автокатализ, происхождение жизни, 9P, **617**
- Автоматизированное секвенирование ДНК, 847, 847P
- Автономно реплицирующаяся последовательность (ARS), 440, 442P
- Автоэлектронные эмиссионные пушки, 930, 938

- Агрекан, 1811, 1813, 1813P, 1815T
- Агрегация белков, *см. также* Прионные заболевания
- болезни человека, 611P, 611–612
 - состояние, эпигенетика, 728P
 - устойчивость к протеолизу, 611
 - уязвимость ЦНС, 611
- Агрин, нервно-мышечные соединения, 1792
- Адаптация
- бактериальный хемотаксис, 1517
 - даун-регуляция рецепторов, 1514, 1514P
 - депонирование рецепторов, 1514P, 1515
 - кальций-зависимый калиевый канал, 1060
 - ответ на зрительный сигнал, 1515
 - фоторецепторы, 1515
- Адаптерные белки, сигнальные пути, 1514, 1516
- Адаптин, окаймленные клатрином пузырьки, 1160P
- Адгезины
- индукция фагоцитоза бактериями, 2311, 2313P
 - прикрепление бактерий к эпителию, 2301
- Адгезионные соединения, 1744T, *см. также* Адгезия клеток
- адгезионный пояс (поясок сцепления), 1755, 1756P
 - взаимодействия катенина, 1755
 - встречаемость, 1755
 - кадгерин, *см.* Кадгерин(ы)
 - координация подвижности клеток, **1755**
 - столбчатый эпителий, 1742, 1742P
- Адгезионный пояс (поясок сцепления), 1755, 1756P
- Аденин, 181P, 302, 462P
- дезаминирование, 462P
 - спаривание оснований, 303P
 - структура РНК, 509
- Аденовирус(ы), 2292P
- проникновение и декапсидация, 2308P, 2310
 - связанное с микротрубочками движение в аксонах, 2324
- Аденозиндезаминаз(ы) (ADAR), 746, 746P
- скорости реакции, 242P
- Аденозиндифосфат, *см.* ADP (АДФ)
- Аденозинтрифосфат, *см.* АТФ (аденозинтрифосфат, АТФ)
- Аденокарцинома, определение, 1850
- Аденома, определение, 1850
- Аденоматозный полипоз толстой кишки, *см.* APC (белок/ген аденоматозного полипоза толстой кишки)
- Адипоциты, *см.* Жировая клетка
- Адреналин (эпинефрин), 1514T
- расщепление гликогена, 1514
 - регуляция гладких мышц, 1580
 - рецепторы, сопряженные с G-белками, 1514
- Адренокортикотропный гормон (АКТГ), 1233P, 1514T
- Адьювант(ы), 2361
- Азид, связывание с цитохромоксидазой, 1282
- Аквапорины, 1036P, **1036–1038**
- механизм работы, 1037, 1038
 - структура, 976P, 1037, 1037P
- Аконитаза, 122P
- Акросома, 1977
- Акросомальная реакция, 1982, **1983**, 1985P
- Аксин, 1518
- Аксон(ы), 1045P, 1607, *см. также* Дендрит(ы)
- миелиновая оболочка, 1042, 1045P
 - нервная сигнализация, 1038
 - ориентация микротрубочек, 1607
 - развитие, 2120–2122, 2122P
 - дифференцировка из дендритов, 2120
 - механизмы направления, 1751, 1762, 1805, 2123P, 2122–2125
 - ретино-текстальная карта, 2128–2131
 - распространение потенциала действия, 1041P, *см. также* Потенциал действия
 - цитоскелет, **1607–1612**, *см. также* Аксональный транспорт
- Аксональный транспорт
- вирусы герпеса, 2323P, 2323–2324
 - *ср.* антероградный и ретроградный, 1609
- Аксонема, сперматозоид, 1977, 1977P
- Аксонемные динеины, 1558, 1585, 1585P
- Аксонный холмик, ионные каналы, 1058
- Активатор катаболизма, белок (CAP), 644T, 646P, 671
- Активированные носители (переносчики) в метаболизме, 133T, **125–136**, *см. также* конкретные переносчики
- гликолиз, 145P, *см. также* Гликолиз

- образование, 123–125
- сопряжение реакций, 125–126, 129–131, 1267–1269
- Активный транспорт, 1009P, **1007–1027**, 1264, 1266P, *см. также* Белки-переносчики
- антипорты, *см.* Антипорты
- движимые ионными градиентами, **1011–1013**
- симпорты, 1011, 1011P, 1015
- *ср.* первичный и вторичный, 1011
- унипорты, 1011, 1011P
- устойчивость к антибиотикам и, 2333, 2335P
- Активный участок (сайт), 112–113, 115P
- лизоцима, 247P, 249P, 250
- роль в катализе, 250, *см. также* Ферментативный катализ
- сериновые протеазы, 232, 234P
- сплайсосома, 541
- Актин-связывающие белок/ки, 1521P, 1524P, **1543–1546**
- поперечная сшивка, **1543–1545**, 1545P
- образование гелей/сетей, 1543, **1546–1548**, 1548P
- образование пучков, 1543–1545, 1545P
- расщепляющие белки, **1534**
- Актин/актиновые филаменты, 941P, 1519P
- D-форма (связанная с ADP), 1520
- *Saccharomyces cerevisiae*, 1520
- T-форма (связанная с ATP), 1520
- актиновые заплатки у дрожжей, 1520, 1520P
- бактериальный гомолог, 1521, 1521P
- деполимеризация, 1535
- кофилин, *см.* Кофилин (фактор деполимеризации актина)
- динамическое поведение, 1519, 1591
- дополнительные белки, *см.* Актин-связывающие белок/ки
- изоформы, 1521
- клеточный кортекс, 1590P, 1591
- конус нарастания нерва, 2122P
- кэпирование, 1538, 1538P
- минус-конец, тропомодулин, 1538
- мышечное сокращение, **1574–1577**
- нуклеация, *см.* Полимеризация актина
- нуклеация и рост, индуцированные патогеном, 2321P, 2321–2323, *см. также* Полимеризация актина
- механизм нуклеации, 2323P
- организация, влияние Rac, Rho и Cdc42, 1599P, 1599–1601, 1601P
- отложение клеточной стенки у растений, 1842
- плюс-конец, 10000
- движение миозина, 1554
- кэпирующий белок, 1538
- полимеризация, *см.* Полимеризация актина
- прикрепляющие соединения, 1741T, 1742, 1744T
- адгезионные контакты и подвижность клеток, **1755**
- связывание интегрина, 1795, 1795P
- через катенины, 1755P, **1755**
- регуляция белками ERM, 1548
- сайт связывания нуклеотида, 1520, 1520P
- сборка, *см.* Полимеризация актина
- свойства, 1519
- скорость роста плюс-/минус-концов, 1520
- сократительное кольцо (цитокinesis), 1519, **1678–1679**
- RhoA и, 1681, 1681P
- структура, 218P, 1519, 1519P, 1520
- субъединицы, 1520
- структура аксона, 1609
- структуры, 1543
- токсины влияющие на, 1521, 1521T
- тредмиллинг, **1520**, 1520, 1520P, 1520PP
- удлинение, модификация белками, 1532–1534
- эволюционный консерватизм, 1521
- Актиновые волокна, у дрожжей, 1520, 1520P
- Актиномицин, 592T
- Актиноподобный белок (ARP), 1524P, 1529, 1567
- Аланин, структура, 195P
- Алкогольдегидрогеназа, структура, 179P
- Аллель/и, 480, 852P, 858
- белков МНС, 2421
- влияние естественного отбора, 862–864, 864P
- частота, гаплотипные блоки, 864P
- Аллельное исключение, **2403**

- Аллергия/аллергические реакции, 2388, 2390, 2390P
- Аллостерическая регуляция, **258–266**
- интегрин, 1796
 - конформационные изменения, 258, 260P
 - опосредованные фосфорилированием, 264
 - протонных насосов, 1283–1286
 - рибозимов, 621
 - кооперативные переходы, 261P, 261–263, 263, 264P, *см. также* Кооперативность (взаимодействия белков)
 - сопряжение, 258–260, 260P, *см. также* Регуляция путем обратной связи
- Аллостерические белки, 258, 260–261
- Аллостерические кооперативные переходы, *см.* Аллостерическая регуляция
- Аллотрансплантант, 2420
- Альбинизм (гипопигментация), 1206
- Альбумин, характеристика гена, 831–833
- Альвеолы
- легких, 2194, 2195P
 - молочных желез, 1427–1428б, 2183P
- Альвеолярные клетки, типы I/II, 2194
- Альдегиды, окисление в гликолизе, 145P
- Альдозы, 177P
- Альдолаза, 185P
- Альпорта синдром, 1791
- Альтернативный сплайсинг, 534
- α -тропомиозина ген, 536P, 741
 - *Dscam* ген, 739P
 - варианты, 739–741
 - взаимоисключающие экзоны, 739P
 - внутренний сайт сплайсинга, 739P
 - молекула адгезии нервных клеток (NCAM), 1761–1762
 - неоднозначность интрона, 741
 - пересмотр понятия «ген», 741–742
 - посттранскрипционная генная регуляция, 739P, **739–741**
 - преимущества, 534, 739
 - регуляция, 741, 741P
 - сигналы сплайсинга, 536, 536P
 - факультативный интрон, 739P
 - факультативный экзон, 739P
- Альцгеймера болезнь, белковые агрегаты, 611, 1535, 1565
- Амеба, 47P
- ползание клеток, 1590
 - распространение болезни легионеров, 2311
 - регуляция осмоса, 1020
- Амидная связь, гидролиз, 242P
- Амилоидный белок, агрегация, 609–611
- Амилопласты, 1292, 1292P
- Аминоацил-tРНК-рибосома, связывание, 575, 575P
- Аминоацил-tРНК-синтетаза, 568, **568–569**, *см. также* Транспортная РНК
- каталитическая реакция, 569, 569P
 - редактирование, 568, 570, 570P
 - синтетические рибозимы, 626
 - структура, 569–570, 572P
 - точность, 569–570, 578–580
- Аминогруппа, 171P
- Аминокислота/ы, 7, 91–93, 190, *см. также* Белок/ки; *отдельные аминокислоты*
- аминокислотное редактирование, 568, 569P, *см. также* Транспортная РНК
 - анализ, данные о частоте мутаций, 405
 - заряд (значения pK), 93P
 - источник энергии, 155, 158, *см. также* Цикл лимонной кислоты
 - кодирование, 305–307, 307P, *см. также* Генетический код
 - незаменимые, 158, 158P
 - оптические изомеры, 194P
 - роль в структуре белка, **190–206**
 - роль в фолдинге белков, 197, 197P
 - роль в функционировании белков, 230
 - влияние боковых цепей, 232P, 232–234
 - семейства, 194
 - кислые, 194, 194, 195P
 - неполярные, 192P, 195P
 - основные, 192P, 195P
 - полярные (незаряженные), 192P, 195P
 - структура, 91P, 91–93, 194P
 - боковые цепи, 93P, 190–192
 - субъединицы белков, 91, 191P
 - цикл азота, **157–158**
- Амниотический мешок, 2108
- Ампицилин, устойчивость, мобильные генетические элементы, 486P
- Амфифильные молекулы
- фосфолипиды, 90–91
 - эволюционное значение, 621–624

- Анаболизм, *см.* Биосинтез
- Анализ белков, *см. также* Микроскопия;
Идентификация белков; Очистка белков
- белок-белковые взаимодействия, 807–808, 808P, 810P, **810–811**
 - гидродинамические измерения, 805–807
 - динамика, визуализация мечением GFP, 913, 915P
 - масс-спектрометрия, 803P, **801–804**
 - протеомика, 801
 - расшифровка структуры, 209, **798–820**
 - ДСН-ПААГ, 798
 - ЯМР, 209, **816–817**
 - рентгеновская дифракция, 209, 814P, **813–816**
 - секвенирование, *см. также* Секвенирование ДНК
 - выравнивание последовательностей, 819, 819P
 - идентификация участков связывания лигандов, 234
 - масс-спектрометрия, **801–804**
 - поиски гомологии, 209, 209P
 - хроматография, 792P, **791–794**, 794P, 796P
 - электрофорез, 800PP
 - вестерн-блоттинг, 800, 801P
 - двумерный ПААГ, 804P, **804–805**, 805PP
 - изоэлектрическое фокусирование, 805P
- Анализ групп сцепления, 860–861, *см. также* Гомологичная рекомбинация (кроссинговер)
- картирование генов, **860–861**, 861P
 - локализация генов, **860–861**, 861P
- Анафаза
- мейоз
 - анафаза I, 1676, 1676P
 - анафаза II, 1676P
 - митоз
 - анафаза B, **1673–1674**
 - анафаза A, **1673–1674**
 - контрольная точка сборки веретена деления и, 1672
- Анафаза-стимулирующий комплекс (APC/C), 1636, 1639T
- G₁-фаза и, 1689P, 1689–1691
 - мишени/механизм действия, 1637P, 1646, 1689
 - M-циклины, 1636
 - S-циклины, 1636
 - инициация репликации ДНК и, 1642
 - разрушение геминина, 1642–1643
 - разрушение секурина, 1636
 - расхождение хроматид и завершение митоза, 1639, 1670P, **1670**, 1672P
 - регулируемый протеолиз, 608, 609P
 - регуляция, 1636, 1639T, 1670, 1689–1691
- Анаэробные организмы, 1289, 1289P
- гликолиз, 1289, *см. также* гликолиз
 - окисление муравьиной кислоты, 1335, 1335P
 - патогенные, 2300
 - эволюционное значение, 18, **1334–1336**
- Ангидриды кислот, 171P
- Ангиогенез, 2212, 2216–2217
- ингибиторы, в терапии рака, 1929
 - ответ на ранение и повреждение, 2216, 2216P
 - процесс, 2212–2214
 - роль эндотелиальных клеток, 2212, 2214P
 - рост капилляров, 2214, 2214P
 - рост опухолей и, **1870–1871**, 2216
- Анемия, 696, 994
- Анемия Фанкони типов A-G, дефекты репарации ДНК, 453T
- Анеуплоидия
- мейотическое нерасхождение, 1954–1956
 - полиспермия, 1986
- Анизомидин, 592T
- Анион, определение, 71
- Антенный комплекс, 1302, 1302P
- Антибиотики, **2331–2338**
- мишени/механизм действия, 2288P, 2333P
 - ингибиторы синтеза белков, 590, 590P, 592T
 - неправомерное употребление, 2338
 - устойчивость, **2331–2338**
 - активное выкачивание, 2333, 2335P
 - горизонтальный перенос, 2333–2335
 - горизонтальный перенос генов, 32
 - давление естественного отбора, 2335
 - изменение ферментов, 2333, 2335P
 - мобильные генетические элементы, 486P
 - продукт R-гена, 2333, 2335P
 - экологические ниши, 2335–2338
- Антиген(ы), 235, 2361, 2390

- моноклональная специфичность, 785–786
- Антиген-антитело связывание, 235–237, 2384P, 2391P
- константа сродства (K_a), **2391**
- число детерминант, 2384P
- Антиген-презентирующие клетки, 2363, 2365, 2365P, 2413P, **2413–2415**, см. также Макрофаг(и)
- костимулирующие молекулы, 2415P
- Антиген-связывающий участок, 2382, 2382P, 2385P, 2393P, 2396P
- структура, 235, 237P, **2395–2396**
- Антигенная изменчивость, 2327P, 2327–2329
- Антигенные детерминанты (эпитопы), **2370**, 2391P
- Антикодоны, 8, 9P, 565P, **565–566**, 566P, 578
- неоднозначность, 566, 566P
- Антимикробные лекарства, устойчивость, см. Антибиотики, устойчивость
- Антимюллеров гормон, 1964, 1965P
- Антипорты, 1011, см. также конкретные типы
- механизм, 1011
- натрий-зависимый хлор/гидрокарбонат-обменник, 1013–1014
- натрий-кальциевый насос (АТРаз), **1018–1020**, 1289–1290
- натрий-кальциевый обменник, 1017
- натрий-протонный обменник, 1013
- Антисмысловая РНК, доминантно-негативные мутации, 867, 867P
- Антисыворотка, 907
- Антитела, см. Иммуноглобулин(ы)
- Антральные фолликулы, 1975
- Апикальная меристема, **2145**, 2152P, 2154–2155, 2155P
- корень, 1785, 2150P
- побег, 1785, 2143P, 2152PP, 2154–2155, 2157P
- поддержание сигнализацией Wuschel и Clavata, 2154–2155, 2155P
- Апиримидиновые участки, 459P
- Апоптоз (программируемая клеточная смерть), 1714P, **1713–1734**
- IRES-зависимый синтез белков клеточной смерти, 757
- активация/индукция
- — Araf1, 1722, 1723P
- — Fas лиганд/Fas рецептор, 1720, 2413, 2417P, 2448
- — ненормальная митогенная стимуляция, **1699–1700**
- — повреждение ДНК, 1697
- — прокаспазы, 1717, 1719, 1720P, 1722
- в молочной железе, 2185
- в развитии, 1729
- — *C. elegans*, 2028
- — лапы мыши, 1714, 1714P
- — метаморфоз головастика, 1714, 1716P
- внешний путь, **1720–1722**
- внутренний путь, **1722**, 1726P, 1728P
- клеточная сигнализация, 1356, 1357P
- клеточные изменения, 1713
- — плазматическая мембрана, 1716
- кроветворение, 2236
- мембранный потенциал, 1717
- митохондриальные белки, 1314
- нейроны, 2125–2126
- повреждение ДНК, 1716, 1717P
- протеолитический каскад, каспазы, см. Каспаза/ы
- рак и, 1730, 1863–1864, 1864P, **1905–1907**
- распознавание клеток, биохимическое, **1716–1717**
- регуляция
- — Bcl2 белки, **1722–1726**
- — IAP белки, **1726–1728**
- — антиапоптотические белки, 1723–1725
- — проапоптотические белки, 1723–1725
- связанные нарушения, **1730**
- удаление макрофагами, 1208
- фагоцитоз, 1208, 1713
- фосфатидилсерин, 967
- элиминация клеток, **1713–1716**
- Аппарат Гольджи (комплекс Гольджи), **1176**
- выходная сторона, 1183, 1194P
- мембранные белки, гликозилирование, 979
- микротрубочковые моторы, организация мембраны, 1565
- модель везикулярного транспорта, транспорт между цистернами, **1193–1194**
- модель созревания цистерн, транспорт между цистернами, **1194**
- молекулярная компартментализация, 1185
- объем, 1069T

- объем мембраны, 1069Т
- положение в клетке, 1069
- процессинг олигосахаридных цепей, **1185–1189**, 1189Р, 1193
- процессинг/презентация антигена, 2431Р
- распределение в клетке, 1183
- распределение при цитокинезе, 1686
- сборка протеингликанов, **1189–1191**
- селективное удержание белков, 1181
- структура, 1068, 1181Р, **1181–1185**, 1194Р
- *транс*-сеть Гольджи (ТСГ), *см. Транс-сеть Гольджи (ТСГ)*
- *транс*-сторона (выходная сторона), **1183**, 1194Р
- транспорт в лизосомы, 1205Р, **1196–1208**
 - GlcNAc-фосфотрансфераза, 1205, 1206Р
 - добавление М6Р, **1205**
 - рецептор М6Р, 1202–1204
- транспорт из ЭР, **1176–1208**, *см. также* Эндоплазматический ретикулум (ЭР)
- транспорт к клеточной поверхности из, **1226–1241**, *см. также* Экзоцитоз
- транспорт через, **1193–1194**
- ферменты, значение, 1181
- формирование окаймленных клатрином пузырьков, 1160Р, **1158–1163**
- функциональная компартиментализация, 1194Р
- *цис*-сеть Гольджи (ЦСГ), *см. Цис-сеть Гольджи (ЦСГ)*
- цистерны, 1181Р, 1181–1183, 1194Р
- Апуринизация, *см. Депуринизация (апуринизация)*
- Апуриновые участки, 459Р
- Аргинин, структура, 194Р
- Аррестин, 1515Р, 1515–1516
- Артерия, 2211Р
- Артрит, хронические инфекции, 2299
- Археи (археобактерии), 24, 24Р, **26**, 27Т
 - бактериородопсин, **986–988**
 - состав мембраны, 963
- Архитектурные белки, 685–687, 688Р, *см. также* Изгиб ДНК
- Асимметричное деление клеток, 1688Р, **1688**
 - ооциты, 1970Р, 1970–1972
 - стволовые клетки, 2174, 2174Р
- Асимметричное деление, ооциты, 1970, 1970Р
- Асимметрия деления при образовании стволовых клеток, 2174, 2174Р
- Аспарагин, структура, 195Р
- Аспарагин-связанные олигосахариды, гликозилирование белков, 1132, 1132Р, 1147Р
- Аспарагиновая кислота, структура, 195Р
- Аспаргат (аспарагиновая кислота), структура, 195Р
- Аспаргаттранскарбамоилаза
 - аллостерические кооперативные переходы, 261–263, 263Р
 - каталитический механизм, 173–174б, 263Р
 - структура, 217Р, 261, 263Р
- Ассоциативное обучение, 2135–2137
- Ассоциированные с микротрубочками белки (МАР), 1525Р, 1658
- Ассоциированный с функцией лейкоцитов белок 1 (LFA1), 1799Т
- Астма, 2299, 2352Р
- Астральная релаксация, модель, 1683, 1683Р
- Астральная стимуляция, модель, 1683, 1683Р
- Астральные микротрубочки, 1588Р, 1652, 1652Р
- Атаксия-телеангиэктазия (АТ), 453Т, 505
 - мутация, 453Т, 505, 1697
- Атеросклероз, 1214, 2299
- Атеросклеротические бляшки, 1214, 2299
- Атипичная протеинкиназа С (аPKC), апикально-базальная полярность эпителия, 1775
- Атомно-силовая микроскопия (АСМ), 924, 925Р
- Атомное моделирование, белки, 813–819
- Атомный вес, определение, 68
- Атомы, 71Р, 68–73, 73Р
 - атомная структура, 68–69, 69Р
 - электроны, *см. Электрон*
 - атомные взаимодействия, 69–73
 - атомный радиус, 78
 - валентности, 71
 - заполняющие пространство модели, 78
- Аттенуация, бактериальная регуляция генов, 736–737
- Ауксин, 1519, 2145–2146, **2152–2154**
 - индолилуксусная кислота, 1519Р, 2149Р
 - транспорт у растений, **1519**
- Аутоиммунные заболевания, 2361, 2377

- Аутоиммунный регулятор (AIRE), иммунологическая толерантность, 2439
- Аутокринная сигнализация, 1350
- Аутосома/ы, 730, 852P, 1944
- Аутофагия, **1200–1202**, 1202P, 1204P
— апоптоз, 1729
- Аутофагосома/ы, 1200–1202, 1204P
- Аутофосфорилирование, 1515, 1515P, 1516
- Афлатоксин В1, 1877, 1878P, 1883
- Африканская сонная болезнь, 544
- Африканский онхоцеркоз (речная слепота), 2326
- Аффинная хроматография, 791, 794P
— ДНК-связывающие белки, 658–660, 660P
— белковые маркеры, 796P
— белок-белковые взаимодействия, 807
— матрицы, 823P
— принципы, 658–660
— разделение/очистление белков, 658–660, 660P, **792–794**, 796P, *см. также* Белковые метки
— с использованием металлов, 794
- Аффинность, антитела к антигенной детерминанте, 2391
- Ацетилирование, гистоны, 341P, 446
- Ацетилхолин (АцХ)
— концентрация в синаптической щели, 1352
— нейромедиаторная функция, 1051, 1240
— оксид азота в кровеносных сосудах, 1361
— различные ответы различных клеток, 1357, 1357P
— рецепторы, *см.* Ацетилхолиновые рецепторы
— структура, 1357P
- Ацетилхолиновые рецепторы, 2132
— история, 1051
— как медиатор-зависимые каналы, **1051–1054**
— конформационные изменения, 1053P
— механизм работы, 1053
— мускариновые, 1515
— нервно-мышечное соединение, **1051–1054**, 1056P
— базальная мембрана и, 1792
— последовательная активация, **1056–1057**
— никотиновые, 1515
— потенциал покоя, 1053
— селективность, 1053
— структура, 1053
— структурная модель, 1054P
- Аэробный метаболизм, 152–154
— бактериальный, 1289, 1289P
— эволюция, 18, 39, 1337–1338
- Базальная мембрана, 1739, 1740P, **1787–1794**, 2171P
— молочная железа, 2185
— поддержание эпидермальных стволовых клеток, 2174, 2182
— распределение/встречаемость, 1787P, **1787–1788**
— синтез, 1788
— структура/состав, 1788, 1788, 1789P, 1791P
— коллаген типа IV, 1788, **1789–1791**
— ламинины, **1788–1789**
— функциональные роли, 1787
— барьерные функции, 1792
— механическая, 1788
— почечные клубочки, 1787P, 1787–1788, 1791
— разнообразие, **1791–1794**
— регенерация и, 1792P, 1792–1794
- Базальная пластинка, *см.* Базальная мембрана
- Базально-клеточная карцинома, 1518
- Базальные клетки
— обонятельного эпителия, 2187P, 2188
— эпидермиса, 2171, 2171P
- Базовые белки «спираль-петля-спираль» (bHLH), 1400T, 2071, 2081
- Базофилы, 2222P, 2388, 2390P
- Базы данных, 817–819
- Бактериальная экспрессия генов, регуляция, **516–519**, 520P, 530P, *см. также* Транскрипция
— аттенуация транскрипции, 736–737
— белки-регуляторы генов, 640, *см. также* Генетические переключатели; Репрессорные белки
— распознавание последовательности ДНК, 640
— репрессоры, 640
— опероны, 667P, **712–713**, *см. также* Lac-оперон (*Escherichia coli*)
- Бактериальные искусственные хромосомы (BAC), 834, 849

- Бактериальные токсины, 2285
- *Bacillus anthracis*, 2287
 - диарея в результате, 2283
 - летальный токсин (сибирская язва), 2287
 - механизм действия, 2287–2288
 - избыточная продукция cAMP, 2303
 - отечный токсин (сибирская язва), 2287
 - система секреции типа III, 2287, 2288P, 2304
 - система секреции типа IV, 2287–2288
 - холера, 2285, 2304–2306
- Бактерии, 24, 24P, 2278, 2280–2281, *см. также конкретные организмы*
- *E. coli* как модель, 35–36, 36P
 - вирулентность, гены и факторы, 2283
 - вирусы, *см.* Бактериофаг(и)
 - встраивание поринов, 1101, 1101P
 - генная регуляция, *см.* Бактериальная экспрессия генов, регуляция
 - геномы
 - размер, 26, 27T, 2278
 - секвенированные, 27T
 - грамотрицательные, 2281P, 2341
 - грамположительные, 2281P, 2341
 - действие и мишени антибиотиков, 2288P
 - источники энергии, 1289
 - контроль качества трансляции, 595, 595P
 - литотрофные, в гидротермальных источниках, 18
 - мРНК, 531P, 584, 586P
 - нормальная флора, 2275, 2300
 - патогенные, **2280–2288**
 - инфицирование, **2310–2316**
 - облигатные патогены, 2281–2283
 - оппортунистические патогены, 2281
 - организация генома, 2285P
 - *ср.* с непатогенными, 2285P
 - факультативные патогены, 2281
 - передвижение внутри клетки, **2320–2324**
 - последовательности ДНК как иммуностимуляторы, 2341
 - проникновение в клетки хозяина, 2310–2311, 2313P
 - проникновение в клетку хозяина посредством фагоцитоза, **2310–2311**
 - разнообразие, 23
 - репликация ДНК, 429, 432, 434P, *см. также Репликация ДНК*
 - рибопереключатели, 737–739
 - связывание бактериофагов, 2306
 - синтез белков, 530P, 584, *см. также* Антибиотики, *см. также* Белки, синтез; Трансляция
 - ингибиторы, 590, 592T
 - рибосомы, 942P
 - *ср.* с археями и эукариотами, 24, 26P
 - структура/ы, 2281P
 - внешняя мембрана, 1289–1290, 2281P
 - жгутик, *см.* Жгутик
 - капсулы, 2350
 - клеточная стенка, 21, 2281P, 2341
 - пили (фимбрии), 2281P
 - плазматическая мембрана, 1289–1290, 2281P
 - размеры, 21P, 26
 - рибосомы, 942P
 - структуры клеточной поверхности, 2281P
 - форма, 21P, 2281P
 - токсины, *см.* Бактериальные токсины
 - фазовая вариация, перестройка ДНК, 699–701
 - фотосинтезирующие, 1290, 1323, **1336–1340**, *см. также* Цианобактерии; Фотосинтез; Пурпурные бактерии
 - хемиосмотическое сопряжение, 1289P, 1289–1290
 - химический состав, 85T, 98T
 - хромосомы, 310, 2283P
 - точка начала репликации, 432, 434P
 - экспрессия генов, 530P, *см. также* Транскрипция
 - электронный транспорт, 1337P, *см. также* Электрон-транспортные цепи
 - эволюция, **1335–1336**
 - эпигенетика, 728
- Бактериородопсин, 986P, 987P, **986–988**
- Бактериофаг T4, 32P
- Бактериофаг лямбда
- адгезия к бактериям, 2306
 - генная регуляция, **704–705**, 705P, *см. также* *Сго* репрессор; Лямбда репрессор
 - *Сго* репрессор, 648P, 704–705, 705P
 - димеризация, 214, 214P
 - корепрессия, 704, 705P
 - лямбда репрессор, 640, 644T, 704, 705P

- распознавание последовательностей, 648P
- жизненный цикл, 497P
- встраивание (интеграция), 495, 497P
- вырезание (эксцизия), 495
- литическое состояние, 705, 705P
- профаг, 704, 705P
- статус наследования, 705, 705P
- консервативная сайт-специфическая рекомбинация, **495**, 497P
- интегразы, 451, 495, 497P
- эксцизионаза, 498
- транскрипционные цепи, 707
- Бактериофаг(и), 31, 32P, 2285, 2285P, *см. также* конкретные вирусы
- встраивание генома, **495**, 497P, *см. также* Транспозиция
- перенос генов вирулентности, 2283–2285
- связывание с бактериями, 2306
- Батарея генов, координируемая критическим регуляторным белком, 713–715
- Белки, **190–297**
- агрегация, *см.* Агрегация белков
- аллостерия, 258, 260–261, *см. также* Аллостерическая регуляция
- белковые взаимодействия, *см.* Белок-белковые взаимодействия
- взаимодействие с ДНК, *см.* Белок-ДНК взаимодействия
- гликозилирование, *см.* Гликозилирование белков
- глобулярные, 215, 218
- движение (изменение формы), **271–275**, 275P
- деградация, *см.* Протеолиз
- денатурация, 197, 798
- идентификация, *см.* Идентификация белков
- избытке в клетках, 96P
- как катализаторы, **7–8**, 8P, *см. также* Фермент(ы)
- как машины, *см.* Белковые машины
- классификация, 207–209
- комплексы, *см.* Белковые комплексы
- контроль качества, **600–602**, 602P
- конформационные изменения, *см.* Конформационные изменения
- кристаллы, 814, 814P
- макромолекулярные субъединицы, 223
- методы анализа, *см.* Анализ белков
- мечение GFP для визуализации в живых клетках, 911–913, 915P
- модули, 205, 205P, 210P, 210–212, *см. также* Белковая структура, домены
- фосфорилирование, 264, 285
- моторные, *см.* Моторные белки
- небелковые компоненты, 250–251
- основные принципы, 7
- регуляция генов, *см.* Белки-регуляторы генов
- секвенирование, *см.* Анализ белков
- семейства, *см.* Белковые семейства
- синтез, *см.* Белки, синтез
- сортировка, *см.* Сортировка белков
- стабильность, 206, 221P
- структура, *см.* Белковая структура
- субъединицы, 212P, 214P, 214–215, 215P, 223, *см. также* Белковые комплексы; Белок-белковые взаимодействия
- транслокация, *см.* Транспорт белков
- участки (сайты) связывания, 214, **231–237**, *см. также* Активный участок (сайт); Белковые комплексы
- фибриллярные, 218–220, *см. также* конкретные типы
- фолдинг, *см.* Фолдинг (сворачивание) белков
- форма/размер, 198, *см. также* Белковая структура
- фосфорилирование, *см.* Фосфорилирование белков
- функции, *см.* Белки, функции
- химический синтез, 844
- эволюция, *см.* Эволюция белков
- Белки плюс-концов микротрубочек (+TIP), формирование микротрубочек, 1525P, 1540, 1540P
- Белки слияния, *см. также* Белковые метки
- вирусные, слияние мембран, 1173–1174
- Белки, связывающие одноцепочечную ДНК, *см.* SSB (белки, связывающие одноцепочечную ДНК)
- Белки, связь структуры с функцией, 232–234
- Белки, синтез, 134, 134P, **562–616**, *см. также* Фолдинг (сворачивание) белков; Трансляция

- ЭР и, *см.* Эндоплазматический ретикулум (ЭР)
- ингибиторы, 590, 592Т, *см. также* Антибиотики
- инициация, **582–584**, 584Р
- локализация, *см.* Рибосомы
- образование пептидной связи, 91, 93Р, 190, 572Р
- посттрансляционные изменения, *см.* Посттрансляционные модификации
- прокариоты, 530Р, 584
- рамки считывания, 565, 565Р
- связь с ДНК, *см.* Экспрессия генов; Генетический код; Матричная РНК (мРНК)
- терминация, 586Р, **586**
- уровни регуляции, 614
- цикл элонгации, 572, 572Р, 576Р, 578Р
- пептидилтрансфераза, 576, 582, 582Р
- факторы элонгации, 271–273, 578Р, 578–580
- этапы, 575–576, 576Р
- эволюция, 626–627
- экспериментальный анализ, бесклеточные системы, 791
- эукариоты, 530Р, 584, 584Р, 614Р
- Белки, функции, **230–300**
- влияние фосфорилирования, *см.* Фосфорилирование белков
- связывание белка с лигандом, *см.* Белок-лиганд взаимодействия
- связь структуры с функцией, 232–234
- ферменты, *см.* Ферменты
- Белки-активаторы генов, *см.* Транскрипционные активаторы
- Белки-ингибиторы Cdk (СКИ), **1635–1636**, 1636Р, 1639Т, 1691
- Белки-переносчики, **1005–1027**, *см. также* АВС-переносчик(и); Активный транспорт; *конкретные белки*
- АТР-зависимые насосы, 1011Р, **1015–1017**, 1017Р
- активный транспорт, **1009–1027**
- асимметричное распределение в клетках, **1014–1015**
- кинетика, 1010, 1010Р
- конформационные перестройки, 1007Р, 1010, 1010Р
- локализация, 1768
- мембранный транспорт, **1005–1027**
- механизм, 1010Р
- обратимость, 1270Р, 1270–1272
- светозависимые насосы, 1011Р
- сопряжение с протонным градиентом, 1264–1266, 1266Р
- сопряженные переносчики, 1011Р
- специфичность, 1005
- эволюция, 1010
- Белки-переносчики ауксина, 1519
- Белки-регуляторы генов, 340, 527, 527Р, 644Т, **582–726**, *см. также конкретные белки*
- белок-белковые взаимодействия, *см.* Комбинаторный контроль
- взаимодействия белок-ДНК, 640, 642Р, 644–645, 645Р, *см. также* ДНК-связывающие мотивы (белковые); Белок-ДНК взаимодействия
- гетеродимеризация, **652–654**, 654Р, *см. также* Комбинаторный контроль
- латентные, *см.* Латентные белки-регуляторы генов
- методы анализа
- аффинная хроматография, 658–660, 660Р
- иммунопреципитация хроматина, 663–665, 665Р
- определение последовательности ДНК, 660–661, 661Р
- сдвиг электрофоретической подвижности, 657–658, 658Р
- негативная регуляция, 668, 671Р, *см. также* Репрессорные белки
- открытие, 640
- позитивная регуляция, 668, 671Р, *см. также* Транскрипционные активаторы
- распознавание последовательности ДНК, 644Т, 644–645, *см. также* ДНК-связывающие мотивы (белковые)
- определение последовательности, 660–661, 661Р
- предсказание, **655**
- регуляция транскрипции, *см.* Транскрипционный контроль экспрессии генов
- транскрипционные факторы, *см.* Факторы транскрипции, общие (TFII)

- участки распознавания, *см.* Генетические переключатели
- эукариотические, **614–629**, 668, 677–679, *см. также* *Drosophila* развитие, *см. также* Комбинаторный контроль, *см. также* Факторы транскрипции, общие (TFII)
- активаторы, *см.* Транскрипционные активаторы
- батареи генов, 713–715
- глюкокортикоидный рецептор, 713, 713Р
- координированный контроль генов, 712–713, 713Р, 715
- механизмы, 674Р, 680Р, 685Р, **685**, 687Р
- модульная природа, 680, 680Р, 688–690, 691РР
- основные семейства, 2142Т
- развитие многоклеточного организма и, 717, 717Р
- разнообразие, 44
- регуляция, 693–694, 694Р
- репрессоры, *см.* Репрессорные белки
- сборка комплекса, 685–688, 715–717, 736РР
- транскрипционный синергизм, 684Р, 684–685, 715–717
- экспрессия в развитии, 690, 690Р, 691РР
- энхансосома, 687–688, 688Р
- Белки-репрессоры генов, *см.* Репрессорные белки
- Белковые базы данных, 209, 209Р
- Белковые комплексы, 214–215, 218Р, *см. также* Белковые машины; Белок-белковые взаимодействия
- кооперативность, 260–261, 261Р, *см. также* Аллостерическая регуляция
- сборка, **223–230**
- вирусы, 223, 223Р, 225
- влияние фосфорилирования, 264
- димеры, 214, 214Р
- рибосомы, 225
- самосборка, 225–228
- факторы сборки, 228
- связывание белков, 212Р, 214–215, 215Р
- эукариотические комплексы белков-регуляторов генов, 688, 688РР
- Белковые машины, **280–283**, *см. также* Белковые комплексы
- активация, **281–283**
- взаимозаменяемые части, 280–281
- каркасные белки, 280–281, **281–283**
- минимизация числа генов, 280–281
- размещение в клетке, **281–283**
- структура, 280
- Белковые метки, *см. также* Аффинная хроматография; Эпитопные маркеры
- аффинная хроматография, 796Р
- глутатион-S-трансфераза (GST), 794–796, 797Р
- отщепляемые, 796
- Белковые микрочипы, 286
- Белковые модули, 210–212, 264–266
- Белковые мотивы, ДНК-связывающие мотивы, *см.* ДНК-связывающие мотивы (белковые)
- Белковые семейства, 206–209, *см. также* Генные семейства; *конкретные типы*
- гомология последовательностей, 207, 207Р, 209, 209Р
- *ср.* сходство структуры и сходство последовательности, 207Р, 207–209
- эволюционный след, 234Р, 234–235
- Белок-ДНК взаимодействия, 217Р, *см. также* ДНК-связывающие мотивы (белковые); ДНК-связывающие белки
- Rad51 белок, 492Р
- RecA белок, 492Р
- РНК-полимеразы, структурные изменения и, 516–517, 519
- белки-регуляторы генов, 640–642, 642Р, 644–645, 645Р
- влияние структуры ДНК, 640–642, *см. также* Структура ДНК
- гистоны, 325–327
- инициация репликации, 432
- предсказание участков связывания, 655
- распространенные взаимодействия, 655, 657
- энхансосома, 688, 688Р
- Белок-белковые взаимодействия, **285–289**
- SH2-домены, *см.* SH2-домен (домен Src-гомологии 2)
- димеризация, 214
- методы анализа, **807–813**
- одиночные молекулы, 811–813
- оптические методы, **808–811**

- составление карты, 286–289, 808
- субъединицы, 210P, 212P, 214–215, 223P
- типы взаимодействующих поверхностей, 235, 235P
- четвертичная структура, 205
- Белок-кодирующая РНК, транскрипция, РНК-полимераза II, 522T
- Белок-лиганд взаимодействия, 231, *см. также* Белок-ДНК взаимодействия; Белок-белковые взаимодействия
- антиген-антитело, *см.* Антиген-антитело связывание
- боковые цепи аминокислот, 232P, 232–234, 234P
- исключение воды, 232
- кооперативность, 260–261, 261P, *см. также* Аллостерическая регуляция
- нековалентные взаимодействия, 231, 231P, 232, 232P, 234P
- регуляция, 254–256
- аллостерическая, *см.* Аллостерическая регуляция
- сила связывания, 237–238, *см. также* Константа равновесия (*K*)
- сопряжение, 258–260, 260PP
- специфичность, 231
- участки связывания, 231, 231, 232P, 234P
- фермент-субстрат, *см.* Фермент-субстратные взаимодействия
- Белые клетки крови, *см.* Лейкоциты; *конкретные типы клеток*
- Бензопирен, роль в раке, 1877
- Беркитта лимфома
- активирующий транслокацию ген *Мус*, 1897
- вирусная причина, 1881T, 2297
- Бесклеточные системы
- анализ клеточного цикла, 1627, 1627P
- исследование везикулярного транспорта, 1156, 1156P
- реконструкция биологических процессов, **789–791**
- фракционирование клеток, 797
- Бесплодие, 1988
- Бесполое размножение, 1941, 1941P
- Беспорядочная рекомбинация, 482–483
- Бессмертные клеточные линии, 779P, 782T, 1629, *см. также* Контроль клеточного цикла
- Бета-бочонки, трансмембранные белки, 974, 979P, *см. также конкретные белки*
- Бета-клетки (секретирующие инсулин), 2209, 2209P
- Бета-лист, структурный мотив, **198**, 202, 203P, **203**, *см. также* Белковая структура — связывание ДНК, **649**, 651P
- Бетагликан, 1815, 1815T
- Бешентсво, вирус, 2292P, 2324, 2326
- рецептор, 2306
- Библиотеки ДНК, **833–836**, 836, *см. также* Клонирование ДНК
- в дрожевой двугибридной системе, 808
- геномные, 836, 836P
- *ср.* кДНК, 837P, 839
- кДНК, 836, 837P, 839
- Бивалент, образование, 1948, 1948P, 1951P
- Биокулярно возбуждаемые клетки, в зрительной коре, 2134–2135
- Биологический порядок, **101–137**
- структурный, 99P, 101P
- термодинамика, 102–105, *см. также* Термодинамика
- энтропия, 104, 104P
- Биоломинесценция, 918–920
- Биосинтез, 102, *см. также конкретные пути*
- активированные носители, 125P, 128, 128P, *см. также* конкретные носители
- биологический порядок, **101–137**
- ингибирование посредством обратной связи, 256, 256P
- макромолекул, 98
- энергетические затраты, **133–137**
- *ср.* катаболизм, 104P
- холестерин, 131P
- Биосинтетические секреторные пути, 1152P, **1151–1208**, **1228**, *см. также* Экзоцитоз; Транспорт белков
- рН-регуляция, 1180, 1180P
- Биотин, 133P, 251, 251T
- Бластомер, 2086, 2086P, 2108P
- Бластопор, 2088, 2090P, **2090–2091**
- Бластоциста, 2108–2110
- Бластула, 2083P, 2086

- Близнецы, эпигенетические исследования, 730, 730P
- Блоттинг, *см. также* Гибридизация ДНК
- Саузерн-блоттинг, 831P, 831–833
 - вестерн-блоттинг, 801P
 - мембраны, 829
 - нозерн-блоттинг, 829–831, 831P
- Блохи, перенос чумы, 2301, 2301P
- Блума синдром, дефекты репарации ДНК, 453T
- Бокаловидные клетки, 2194–2197
- аппарат Гольджи, 1183
 - дыхательный эпителий, 2195, 2195P
 - кишечника, 2340P
 - секреция слизи, 1183, 1187P, 2199
 - структура, 1187P
- Боковой амиотрофический склероз (БАС), сборка нейрофиламентов, 1521
- Большая бороздка, распознавание, 645, 645P, *см. также* Структура ДНК
- ДНК-связывающие белки, 645P, 651, 652P
 - мотив спираль-поворот-спираль, 645, 646P
- Борозда дробления, 1678, 1678P
- Брассиностероиды, 1519, 2145
- Браун, Луиза, 1988
- Брожение, 142, 1289, *см. также* Гликолиз
- образование молочной кислоты, 142
 - пути, 142P
 - самые ранние клетки, 1334–1335
- Бромдезоксисуридин, *см. BrdU* (бромдезоксисуридин)
- Бронхиола, 2195P
- Буллезный эпидермолиз, 1521, 1542
- «Бусины на нити», хроматин, 324, 324P, 325P
- ВИЧ (вирус иммунодефицита человека, HIV), 2292P, 2428, *см. также конкретные типы*
- Nef белок, 747P
 - Rev белок, 682P, 747P, 747–749, 749P
 - Rev-чувствительный элемент (RRE), 747, 747P, 749P
 - Tat белок, 737, 747P
 - аттенуация транскрипции, 737
 - вход в клетку и декапсидация, 1173–1174, 1174P, 2306–2308, 2308P, 2310
 - мультивезикулярные тельца, 1223
 - геном, 747P, 2295P, 2331
 - жизненный цикл, 491P, 749, 749P
 - корцепторы, 2306P, 2306–2308
 - опосредованное микротрубочками движение по аксонам, 2324
 - пептид слияния, 2310
 - разработка вакцины, 2331
 - рак и, 1881T
 - регулируемый ядерный транспорт, 682PP, 747P, **747–749**, 749P
 - рецепторы, 2306–2308
 - связывание рецепторов хемокинов, 1174P
 - сдвиг рамки считывания при трансляции, 589, 590P
 - структура обратной транскриптазы, 491P
 - устойчивость к лекарствам, 2331
 - частота мутаций, 2329–2331
- ВИЧ-1 (HIV-1), 2331, 2331P
- ВИЧ-2 (HIV-2), расхождение и происхождение, 2331P
- ВЭЖК (высокоэффективная жидкостная хроматография), 792
- Вазопрессин, 1514T
- Вакцины/вакцинирование, 2295, 2295P
- против ВИЧ, создание, 2331
- Валин, структура, 195P
- Валиум, механизм действия, 1054
- Ван-дер-ваальсов радиус, 78, 175P
- Ван-дер-ваальсовы силы, 78, 78P, 83, 175P
- длина/сила связи, 82T
 - сворачивание белков, 197P
- Ванкомицин, устойчивость, 2335
- Варбурга эффект, 1905
- Вариабельный домен
- гены, **2399**
 - легкие цепи Ig, 2393P, 2395P
 - тяжелые цепи Ig, 2393P, 2395P
- Вариации числа копий, 394
- эволюция генома, 396P, 396–398
- Ведущая цепь, синтез (репликация ДНК), 409, 409P, 410, 410, 411P, 414P, **414–418**, 423P
- Везикулярно-губулярные кластеры, **1178–1179**
- возвратный транспорт, 1179, 1179, 1180P
 - образование, 1179, 1179P
 - транспорт из ЭР в аппарат Гольджи, гомотипическое слияние мембран, 1178, 1179P

- электронная микрофотография, 1179P, 1183P
- Везикулярный транспорт, 1077, 1077P, 1152P, **1152–1176**
 - SNARE, *см.* SNARE белки
 - аппарат Гольджи, *см. также* Экзоцитоз
 - в лизосомы, **1196–1208**
 - к клеточной поверхности, **1226–1241**
 - модель, 1193–1194
 - из ЭР в аппарат Гольджи, **1176–1208**
 - исследование, 1156, 1157, 1157P
 - окаймленные пузырьки, *см.* Окаймленные пузырьки
 - связи между органеллами, 1077P
 - секреторные пузырьки, *см.* Секреторные пузырьки (везикулы)
 - специфичность докинга, 1166–1169
 - экзоцитоз, **1226–1241**, *см. также* Экзоцитоз
- Везикулярный транспорт транспорт
 - исследование, 1156P
- Векторы
 - клонирования ДНК, 833–834, 834PP, *см. также* Клонирование ДНК
 - патогенов, 2300–2301
 - передачи вирусов, 2301
 - экспрессии белков, 841, 844, 844PP
- Векторы экспрессии белков, 841, 844, 844PP
- Вентральная пластинка нервной трубки, наведение конуса роста, 2123, 2123P
- Веретено деления, *см.* Митотическое веретено деления
- Веретено деления, контрольная точка сборки, **1672**
- Вернера синдром, дефекты репарации ДНК, 453T
- Вестерн-блоттинг, 800, 801P
- Ветряная оспа, вирус, 2323–2324
- Вечная цепь ДНК, гипотеза, 2180P, 2179–2182
- Взаимодействие белков, карты, 287P, 286–289, 289P
- Видовые различия
 - *Xenopus laevis*, 55–56
 - определение пола, 1965
 - половое размножение, 1958, **1964–1965**
 - хромосомы, 313–315, 315P
- Виллин, поперечная сшивка актина, 1545
- Виментин, 1521, 1521T
- Винбластин (винкристин), 1521T
- Вирион, определение, 2292
- Вирулентность
 - гены, бактериальные, 2283
 - плазмиды, 2283, 2283P, 2285P
 - факторы, 2283, *см. также* Бактериальные токсины
 - сибирская язва, 2287
 - система секреции типа III, 2287, 2288P, 2304
- Вирус иммунодефицита обезьян (SIV), происхождение и расхождение, 2331P
- Вирус иммунодефицита человека, *см.* ВИЧ (вирус иммунодефицита человека, HIV)
- Вирус кустистой карликовости томата, капсид, 225P
- Вирус обезьян 40 (SV40), капсид, 225P
- Вирус табачной мозаики (VTM), самосборка, 225
- Вирус(ы), 2278, **2292–2295**, **2352–2355**, *см. также конкретные инфекции/организмы*
 - РНК-вирусы, *см.* РНК-вирусы
 - адгезия к клетке хозяина, 2306–2308
 - бактериальные, *см.* Бактериофаг(и)
 - безоболочечные, 2293, 2310
 - белки, 2293
 - внутриклеточное движение, **2320–2324**
 - встраивание генома, *см.* Мобильные генетические элементы; Сайт-специфическая рекомбинация
 - геном, 2292, 2293, 2293P
 - жизненные циклы, 2292P, 2292–2293
 - изменение мембранного транспорта клеток хозяина, 2318–2320, 2320P
 - изменение метаболизма хозяина, 2324–2326
 - ингибирование экспрессии белков МНС класса I, 2354–2355
 - как карциногены, **1880–1881**, *см. также* ДНК-содержащие онкогенные вирусы
 - кодируемые ферменты, 2324–2326
 - морфология, 2292, 2292P
 - оболочечные, 2293, 2293P, 2306, 2318, 2320P
 - онкогенные ДНК-содержащие вирусы, 1910P, **1908–1911**
 - передача векторами, 2301

- переносимые с кровью, 2301
- проникновение и декапсидация, 2306, 2308P
- размер, 2292
- разнообразие, 2278
- растений, плазмодесмы и, 1785
- репликация, 2293
- ретровирусы, *см.* Ретровирусы
- рецепторы, 2306–2308
- синтез белков, 2324, 2354–2355
- структура, 223–225, 2292
- икосаэдрические, 941P, 942
- капсиды, 223, 223P, 225, 226P, 2280P, 2293, 2318
- нуклеокапсид, 2293P
- самосборка, 225
- сферические, 226P
- цитолитическое действие, 2292
- эволюция, 2329–2331
- Вирусные инфекции, *см. также* Вирус(ы); *конкретные инфекции/организмы*
- вакцинация, 2295, 2295P
- интерферон- γ , эффект, 2149P
- Вирусы растений, плазмодесмы и, 1785
- Витамин С, недостаток, 1818
- Витамин D, 1364
- рецептор, 1365P
- Витамин D3, 1363P
- Витамин А, 986, 1364
- Витамины, *см. также конкретные витамины*
- как коферменты, 251, 251T
- Вителлиновый слой, 1967
- «Вместе возбуждаем — вместе побеждаем», 2134
- Внедрение (инвазия) цепи, гомологичная комбинация, 496, 500
- Внеклеточное пространство, 1787
- Внеклеточные сигнальные молекулы/пути, **1348–1350**, 1358, *см. также конкретные типы/пути*
- CO, 1363
- NO, 1361P, **1360–1363**
- гидрофобные, 1363
- ингибиторные, 1692, 1693, 1703, 1704P
- классификация по радиусу действия, **1350–1354**
- клеточный ответ, **1357**
- конкуренция за, 1703
- митогены, *см.* Митоген(ы)
- развитие, спецификация гонад, 1961
- регуляция размера/числа клеток, 1692
- совместное действие, 1356
- факторы выживания, *см.* Факторы выживания
- факторы роста, *см.* Факторы роста
- Внеклеточный матрикс, **1807–1831**, *см. также* Кости; Клеточная адгезия; Клеточные контакты
- базальная мембрана, *см.* Базальная мембрана
- деградация, **1828**
- локализация, **1829**
- матричные металлопротеазы, 1829
- сериновые протеазы, 1829
- клеточная адгезия/взаимодействие, *см.* Соединения между клетками и матриксом
- компоненты, 1788, *см. также* Гликопротеины; конкретные макромолекулы
- фибриллярные белки, 218–220, 220P, 1808
- формы/размеры, 1789P
- механические взаимодействия, 1822P, **1822**, 1824P
- сборка фибрилл фибронектина и, 1826P, 1825–1828
- морфогенез и восстановление тканей, **1810–1811**
- разнообразие, 1807
- растения, 1810, 1831, *см. также* Растительная клеточная стенка
- рецепторы матрикса, 1794, *см. также* Интегрин(ы)
- секреция/синтез клетками, 1808P, **1808**
- силы натяжения и, 1599P, 1820–1822
- силы сжатия и, 1810–1811
- экзоцитоз, 1228
- Внутренние мембраны, 38
- Внутригенная мутация, 27, 28P
- Внутриклеточная концентрация ионов, 918, 920P, 1005T
- Внутриклеточное движение, бактерии и вирусы, **2320–2324**
- Внутриклеточные компартменты, 1068P, **1067–1149**, *см. также* Органеллы
- поддержание, **1152–1176**

- эндоцитозный путь, 1154P
- Внутриклеточные патогены, 2304–2306
- вход/выход из клетки-хозяина, 2304–2306, 2317P
- движение при помощи полимеризации актина, 2321–2323
- паразиты, проникновение в клетку-хозяина, **2311–2316**
- стратегии против мембранного транспорта хозяина, 2316P, **2316–2320**
- — выживание в фаголизосоме, 2316P, 2318
- — выход из фаголизосомы, 2316P, 2316–2317
- — модификация бактериями, 2317, 2317P
- — модификация вирусами, 2318–2320, 2320P
- — предотвращение слияния с лизосомами, 2316P, 2317
- Внутриклеточные процессы
- визуализация, *см. также* Зеленый флуоресцентный белок (GFP), *см. также* Радиоизотопы, *см. также* Флуоресцентные красители
- — GFP, **911–913**
- — концентрация ионов, **918–920**, 920P
- — микроинъекция, 920–921, 921P
- — радиоизотопное мечение, **927–928**
- — электропорация, 921, 921P
- манипуляция, 921–922
- Внутриклеточные рецепторы, *см.* Ядерные рецепторы гормонов; Рецепторы, внутриклеточные
- Внутриклеточные сигнальные молекулы/пути, 1348P, 1370P, **1368–1514**, *см. также* Передача сигнала (сигнальная трансдукция); *конкретные молекулы/пути*
- вторичные посредники, 1368
- интегрины, 1797, 1803P, **1803–1805**
- митогены, 1693
- объединение сигналов, 1375P
- положительная обратная связь, 1514P
- пороговый ответ, 1514, 1514P
- сигнальные белки, 1368, 1370P, 1375–1514, *см. также* Сигнальные молекулы/пути; *конкретные молекулы*
- сигнальные комплексы, 1375, 1514P
- усиление сигнала, **1375**
- устройства ввода-вывода, 267–269, *см. также* Протеинкиназы
- фосфорилирование, *см. также* Протеинкиназы
- — остатков тирозина, *см.* Тирозинкиназы
- — *ср.* связывание GTP, 273P
- Внутриклеточный транспорт, *см. также* Цитоскелет; Моторные белки
- исследование химерных белков с GFP, 1157P
- мембранные органеллы, **1067–1069**
- Внутрицитоплазматическая инъекция сперматозоида (ИКСИ, ICSI), 1989, 1989P
- Вода, **174**
- источник электронов, 1306, 1337
- каналы, *см.* Аквапорины
- поведение протонов, 1273, 1273P
- растворитель, 174P
- содержание в клетках, 78–80
- структура, 80P, 174P
- функциональные роли, белки, 232
- химические свойства, 78–80
- Водоразлагающий комплекс, 1306, 1308P, 1337
- Водород, атомная структура, 69P
- Водородные связи, 83, 174, 175P
- аквапорины, 1038
- в воде, 174, 175P
- взаимодействия белок-ДНК, 642, 642P
- длина/энергия связи, 82P
- сворачивание белков, 197P
- связывание белков с лигандами, 231, 232, 232P
- структура ДНК, 302–303, 303P, 305P, 642
- структура белка, 191, 192, 197P
- шаростержневая модель, 83P
- Водоросли, 45
- эволюция, 1338, 1340P
- Возбуждающий постсинаптический потенциал (EPSP), 1057
- Воздухоносные пути, гистология, **2194–2197**
- Волокна (нервные пути), 2122
- Волосковые клетки, 938P, 2187, 2189PP, **2188–2191**
- Воротные ионные каналы, *см.* Ионные каналы
- Воротный транспорт, между ядром и цитоплазмой, 1076, 1077P

- Ворсинки, тонкий кишечник, 2197, 2197P, 2205
- Воспаление/воспалительный ответ, 2340, 2341, **2351–2352**, 2352P
- протеогликаны и, 1814
- Восстановление флуоресценции после фотоотбеливания (FRAP), 916, 918P, 990, 991P, 1157P
- Восстановление, реакции, 110P, 110–112, 1273
- Восточный лошадиный энцефалит, вирус, 2292P
- Вращательная диффузия, мембранные белки, 988
- Время рождения нейрона, 2118–2120, 2120P
- Врожденные пороки, дефекты репарации ДНК, 453T
- Врожденный иммунный ответ, *см.* Иммунный ответ/система, врожденный
- Всасывание питательных веществ, печень, 2207
- Всасывающие (каемчатые) клетки (энтероциты), 2199, 2200P, 2253
- «Все или ничего», ответ, 1514
- Вселенная, временная шкала, *см.* Происхождение жизни
- Вставочная регенерация, 2069, 2069P
- Вставочные нейроны, 2120P
- Вторичная иммунная реакция, **2372**, *см. также* Иммунный ответ/система, приобретенный
- Вторичная иммунная реакция антителогенеза, 2372P
- Вторичные клеточные стенки, 1831, 1832
- Вторичные культуры, 779
- Вторичные мессенджеры, *см.* Вторичные посредники (мессенджеры)
- Вторичные посредники (мессенджеры), **1368**, *см. также* Циклический АМР (сАМР)
- Вторичный лимфоидный орган, *см.* Периферические лимфоидные органы
- Выживание клеток, *см. также* Клеточная смерть
- интегрин и, **1802–1803**
- регуляция гемопоза, 2236
- Выживание, факторы, 1692, **1729**, 1730P
- Выпячивание актиновой сети на ведущем крае, клеточное движение, 1594P
- Выпячивание оснований, 457, 460P, 496, 496P
- Вырезание ДНК, сайт-специфическая рекомбинация, 494, 495, 495P
- Вырезание-вставка, транспозиция, 488, 489P, *см. также* ДНК-транспозоны
- Высокоплотные белковые чипы, белок-белковые взаимодействия, 807
- Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖК), 792
- Вытеснение метки, 927, 927P
- ГАМК (γ -аминомасляная кислота)
- нейромедиаторная роль, 1051, 1240
- рецепторы, влияние психотропных лекарств, 1054
- ГТФ, *см.* GTP (гуанозинтрифосфат, ГТФ)
- Галактоза, в N-связанных олигосахаридах, 1185P
- Галактоцереброзид, 968P
- Гамета/ы, 1941, *см. также* Яйцеклетка (яйцо); Сперматозоиды
- гаплоидное состояние, 1941, 1946, 1958
- образование в результате деления клеток, *см.* Мейоз
- Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК), *см.* ГАМК (γ -аминомасляная кислота)
- Ганглиозиды
- G_{M1}, 968P, 969
- мембраны, 968
- Ганглионарные клетки сетчатки, 2128, 2191
- Гаплоидное состояние
- в половом размножении, 1942P, **1941–1944**, 1946, 1958, *см. также* Мейоз
- дрожжи, 48
- *ср.* диплоидное состояние, 48
- Гаплотипные блоки, 862–864, 864P, *см. также* Карты гаплотипов (хармар)
- Гастрола, 2083P
- Гастроляция, 1998
- *Xenopus*, *см.* *Xenopus laevis* развитие
- морской еж, 1998P
- формирование кишечника, 1998, 1998P
- Гексозы, 177P
- Гексокиназа, 185P, 239
- Гель-фильтрация, 791, 794P
- матрицы, 823P

- очистка белков, 825P
- Гель-электрофорез в градиенте пульсирующего поля, 823
- Гель-электрофорез в присутствии додецилсульфата натрия, *см.* ДСН-ПААГ
- Гель/и
 - GAG и, 1808–1810
 - гелеобразующие белки, 1543, 1548P
- Гельзолин, 1524P, 1534
- Гем, 1277, 1277P
 - координация железа, 250, 250P
 - порфириновые кольца, 1277, 1277P
- Гемангиобластома, 2217
- Гематоксилин, 901, 901P
- Геминин, разрушение APC/C, 1642–1643
- Гемоглобин (Hb), 31P
 - взаимодействие субъединиц, 214–215, 215P
 - гомология генов, 29, *см. также* Глобин, гены
 - кооперативность, 391, 391P
 - координация железа, 250, 250P
 - структура, 217P, 250P, 235–393, *см. также* Глобин(ы)
 - гемовая группа, *см.* Гем
 - цепи глобина, 391P, 391–393
 - эволюция, 391P, **391–393**
- Гемолизин, *Listeria monocytogenes*, 2316–2317
- Геморрагическая лихорадка, вирусная, 2301
- Гемофилия, мутации, 534P
- Ген(ы), *см. также термины, начинающиеся с «Генный/ая/ые»*
 - амплификация
 - ПЦР, *см.* Полимеразная цепная реакция (ПЦР)
 - в раке, онкогенов, **1894–1897**
 - гомологичные, 29P, 29–31, 31P, 376
 - единица транскрипции, 516
 - идентификация, 318, 505, 660, 861P, *см. также конкретные методы*
 - импринтинг, *см.* Геномный импринтинг
 - критичные для рака, *см.* Рак, критичные гены
 - локализация, *см.* Генетическое картирование
 - манипуляция, *см.* Метод рекомбинантных ДНК; Трансгенные организмы
 - определение, **9–10**, 299, 313, 677, 852P
 - история понятия, 741–742
 - пересмотр понятия, 741–742
 - ортологи, 29P, 29–31, 31P
 - паралоги, 29P, 29–31, 31P
 - потеря, раковые клетки, 1887, *см. также* Рак, критичные гены
 - появление из генов-предшественников, **27–28**
 - псевдогены, *см.* Псевдогены
 - расположение в хромосомах, 313P, 313–315, 852P, *см. также* Генетическое картирование
 - секвенирование, *см.* Секвенирование ДНК
 - структура, *см.* Структура гена
 - структура ДНК и, **305–307**, 310, *см. также* Структура ДНК; Генетический код
 - функции
 - биохимический анализ, **33–35**
 - гены домашнего хозяйства, 668, 725
 - определение по мутантному фенотипу, **33–35, 850**
 - меченые нокауты, 875
 - направленные мутации, 884
 - предсказание из гомологии последовательностей, **32**
 - устойчивость к антибиотикам, 486P
 - число, 313, 313P
 - эволюционные «инновации», 28
 - экспрессия, *см.* Экспрессия генов
- Генетика
 - классическая, 850, **852–856**, *см. также* Мейоз, *см. также* Тесты на комплементацию
 - анализ групп сцепления, 861P
 - гаплоидно-диплоидный цикл, 852P
 - генотип, 850
 - гены, *см.* Ген(ы)
 - гетерозигота, 852P
 - гомозигота, 852P
 - два гена или один?, 814P
 - исторические аспекты, 299–300, 302
 - мутации, *см.* Мутация/и
 - рекомбинация, *см.* Рекомбинация
 - тест на комплементацию, 814P, 858
 - фенотип, 850, 852P
 - хромосомы, *см.* Хромосома/ы

- обратная, 850, 865, **865–867**, **884**, см. также Клонирование ДНК; Генетическая инженерия, см. также Рекомбинация; Трансгенные организмы
- РНК-интерференция (RNAi), 878
- доминантно-негативные мутации, 868РР
- замена гена, 871Р
- изменение последовательности белка, 868Р
- методы, 865–867
- мутагенез *in vitro*, 884
- мутации зародышевой линии, 884
- мутации с приобретением функции, 867Р
- сайт-направленный мутагенез, 868Р
- Генетика развития и геновая регуляция, 693–694, 694Р, 1999, 2001, см. также Дифференцировка клеток; конкретные гены
 - *Drosophila*, см. *Drosophila* развитие
 - дифференцировка клеток, 715–717, 717Р
 - комбинаторный контроль генов, 715–717, 717Р
 - необходимые гены, 1999
 - образование органов, 717–719, 719Р
 - регуляторная ДНК предопределяет программу, **2001**, 2001Р, 2001–2002
 - транскрипционный синергизм, 715
- Генетика человека, 855
- Генетическая избыточность, **56**
- Генетическая инженерия, 820, **867–872**, см. также Генетика; Метод рекомбинантных ДНК; конкретные методы
 - ввод генов в зародышевые линии, 868–869
 - замена гена, 869Р
 - изменение последовательности белка, **867–868**, 868Р
 - индуцируемый промотор, 867
 - маркерные последовательности, 875
 - получение доминантно-негативных мутаций, 867РР, **867**
 - трансгенные организмы, см. Трансгенные организмы
- Генетическая информация
 - не обязательно кодируется в нуклеиновой кислоте (прионы), 2295
 - определяющее свойство живого, 2
- Генетическая мозаика, развитие *Drosophila*, 2060
- Генетическая нестабильность
 - дефекты репарации ДНК, 453Т
 - из-за потери p53 после укорочения ДНК, 1866
 - предотвращение, 482Р
 - рак, **1862–1863**, 1919, 1919Р
- Генетическая рекомбинация, см. Рекомбинация
- Генетические заболевания
 - мутации интегрин, **1796–1800**
 - трансплантация ядер соматических клеток, 785
- Генетические переключатели
 - механизмы, 671Р, **665–699**
 - активаторы транскрипции, см. Транскрипционные активаторы
 - операторы, 667Р, 667–668, 668Р
 - репрессоры, см. Репрессорные белки
 - последовательности ДНК, 644, см. также ДНК-связывающие мотивы (белковые)
 - сложные в развитии, 688–690, 690Р, см. также *Eve* (*even-skipped*) ген
 - эволюция, 676–677
- Генетические часы, 710Р
- Генетический код, см. также Трансляция
 - избыточность, 378, 544, 563, 565
 - кодоны, см. Кодоны
 - отклонения, **587–589**
 - в митохондриях, 563, 589, 1322, 1322Т
 - кодон CUG *Candida*, 589
 - транскрипционное рекодирование, 589, 589, 590Р
 - рамки считывания, 565, 565Р
 - структура ДНК и наследственность, 305
 - универсальность, 563
 - эволюция, 460, 626–627
- Генетический обмен, гомологичная рекомбинация, 500
- Генетический скрининг, **850**, **853**
 - идентификация мутантов, **855–856**
 - поведенческих, 855, 856Р
- Генетическое картирование, см. также Секвенирование ДНК
 - анализ групп сцепления, **860–861**, 861Р
 - на основе мейотической рекомбинации, 852Р

- Генетическое разнообразие, роль мейоза, **1944**, 1956Р, **1956–1957**
- Генные осцилляции, синтетическая биология, 710Р
- Генные семейства
- общие у архей, бактерий и эукариот, **33**, 35Т
 - эволюция, **28–31**, *см. также* Белковые семейства, *см. также* Глобин, гены
 - гены глубина, 391Р, 391–393
 - удвоение и расхождение, 390
- «Геном человека», проект, 315–317, 820, *см. также* Геном человека
- Геном человека, **315–317**, 317Т
- библиотека геномной ДНК, 834, 836Р
 - гены, 214, 317Т, *см. также* Структура гена
 - размер, 317
 - регуляторные, 317
 - структура, 315Р, 317Т, 315–318
 - индивидуальная изменчивость, 59
 - масштаб, 317Р, 317Т, 321Р
 - митохондриальный, 1321Р, 1321–1322
 - неретровирусные ретротранспозоны, 491–492
 - размер, 27Т
 - секвенирование, 214, 315–317
 - проект «Геном человека», 315–317, 820
 - сравнительное, 318, 378, 378, 379Р
 - сложность, 214, 315–317
 - состав, 318Р, *см. также* Мобильные генетические элементы, *см. также* Некодирующая ДНК
 - Alu-элементы, 494Р
 - мобильные элементы, 318Р, 486Т, 494
 - филогенетическая реконструкция, 379Р, 384Р
 - хромосомы, 310, 311РР
 - t-петля, 449Р
 - организация генов, 315Р
 - скорость репликации, 434
 - точки начала репликации, 442–444
 - транслокация хромосомы, 18, 313Р
 - хромосома, 32, 315Р, 317Т
- Геном(ы), 10, 307, *см. также конкретные виды*
- *Arabidopsis thaliana*, 214
 - ВИЧ (HIV), 747Р
 - клонирование, 834–836, *см. также* Клонирование ДНК; Библиотеки ДНК
 - кодирование информации, 505, 506Р, 508, 508Р, *см. также* ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота); Экспрессия генов; Генетический код, *см. также* Эволюция генома
 - потенциал, 534
 - центральная догма, *см.* Матричная РНК; Транскрипция; Трансляция
 - консервативная синтения, 318, 319Р, 382
 - митохондриальный, *см.* Митохондриальный геном
 - мышцы, *см.* Мышь
 - органелл
 - митохондрии, *см.* Митохондриальный геном
 - хлоропласты, *см.* Хлоропласт(ы), геном
 - перемещение транспозонов, 494
 - полностью секвенированные организмы, 27Т
 - различия в размере, 27Т, 42–44, 307, 376, 384, *см. также* Эволюция генома
 - минимальный для жизни, 14, 17Р
 - минимальный набор генов (*Mycoplasma*), 14, 875–877
 - разнообразие, **17–38**
 - регуляция развития многоклеточных организмов, **44–45**, 45Р
 - репликация, 307, *см. также* Репликация хромосом; Репликация ДНК
 - секвенирование, *см.* Секвенирование генома
 - сложность, 214, 313–315
 - CG (CpG) островки, 725–726
 - длина экзонов/интронов, 541, 542Р
 - некодирующие области, *см.* Некодирующая ДНК
 - число генов в различных организмах, 27Т, 1323–1324, 1324Р
 - состав, 505
 - удвоение, *Xenopus*, 55–56
 - хромосомы, *см.* Хромосома/ы
 - человека, *см.* Геном человека
 - эволюция, *см.* Эволюция генома
- Геномика
- анализ геномной последовательности, 849
 - меченые нуклеотиды, **874–877**

- сравнительная, см. Сравнительная геномика
- Геномная гибкость, ретровирусы, 2329–2331
- Геномные библиотеки ДНК, 836
 - ср. кДНК, 837Р, 839
 - человека, 836Р
- Геномный импринтинг, 723Р, 722–725, 1967, см. также Сайленсинг генов; Х-инактивация
 - инсулин-подобный фактор роста, 2, 723–725
 - как эпигенетическое явление, 728–730
- Генотип, 850, 852Р
- Гены домашнего хозяйства, CG (CpG) островки, 668, 725
- Гены-супрессоры опухолей, 1886, 1887Р, см. также отдельные гены/белки
 - механизмы потери, 1893Р
 - наследственные формы опухолей, **1890–1891**
 - обнаружение, **1890–1891**
 - потеря при мутации, 1891–1893
 - ср. генетические и эпигенетические изменения, 1894Р
- Геохимическая энергия, 18
- Гепарансульфат, 1350, 1814
- Гепатит, 2306
- Гепатит В, причина рака печени, 1880Т, 1880–1881
- Гепатита вирус(ы)
 - рак печени и, 1880–1881
 - рецепторы, 2306
 - хроническая болезнь, 2299
- Гепатоцит(ы), 2207–2209
 - гладкий эндоплазматический ретикулум, 1114
 - опосредованная глюкокортикоидами экспрессия генов, 635, 638, 713
 - органеллы, количество мембраны, 1069Т
 - электронная микрофотография, 1073Р
- Гермафродит, *C. elegans*, 2019
- Герметизирующие цепочки, плотные контакты, 1769, 1769Р, 1771Р
- Герпеса вирус, 2292Р
 - опосредованное микротрубочка движение по аксону, 2323Р, 2323–2324
 - приобретение оболочки, 2320Р
 - сборка, 2320Р
- Гетерогенные ядерные рибонуклеопротеиды, 542Р, 550
- Гетеродуплекс, мейотическая рекомбинация, 480, 480Р
- Гетеродуплексные сочленения, 495, 496, 497Р, 500Р
- Гетерозигота, определение, 852Р
- Гетерокарион, 786Р, 990, 990Р
- Гетеротипическое слияние мембран, 1178
- Гетерофильное связывание, 1761
 - ср. гомофильное, 1748Р
- Гетерохроматин, **337–340, 364–365**, 1645
 - Х-инактивация, 731–732
 - биологические функции, 337–338
 - динамика, 337
 - короткие тандемные повторы, 843Р
 - множественные формы, 364Р, 364–365
 - модификация гистонов, 364–365
 - наследуемость, 338, 338Р
 - организация, 438
 - регуляция экспрессии генов, 562, 685, 696–697, см. также Сайленсинг генов; Инсуляторные элементы
 - Х-инактивация, 438
 - позиционные эффекты и мозаичный эффект положения, 338, 338Р
 - сайленсинг генов, 337, 338Р
 - репликация, 438
 - центромерный, 337, см. также Центромера/ы
- Гетерохроматиновый белок 1 (HP1), 364
- Гетерохронические гены, 2026Р, 2026–2028
- Гиалуронидаза, 1811
- Гиалуроновая кислота (гиалуронат, гиалуронан), 1808, 1810Р, **1810–1811**
- Гибберелиновая кислота (GA3), 2149Р
- Гибберелины, 1519, 2145
- Гиббса энергия, см. Свободная энергия
- Гибридизация *in situ*, 878–880, 880Р
 - флуоресцентная (FISH), хромосомные пуфы, 365
- Гибридизация ДНК, 496, см. также ДНК-зонд(ы)
 - ДНК-РНК гибридизация, 825–828, 829Р
 - нозерн-блоттинг, 829–831, 831Р
 - Саузерн-блоттинг, 831Р, 831–833
 - метод рекомбинантных ДНК, 820

- модель рекомбинационного спаривания оснований, 496Р
- некоплементарные взаимодействия, 496Р
- нуклеация спирали, 496Р
- раскраска хромосом, 310–311
- условия гибридизации, 825–826, 828Р
- Гибридизация ДНК-РНК, 826–828, 829Р, *см. также* РНК-ДНК гибриды
- Гибридные клетки
 - гибридомы, *см.* Гибридомы
 - создание, 786Р
- Гибридомы, **785–786**, 786Р
- Гигантские хромосомы, *см.* Политенные хромосомы
- Гигантский аксон кальмара, классические эксперименты, 1042, 1044, 1044Р
- Гид-РНК, 554, 556Р
 - редактирование ДНК, 744, 746Р
- Гидрид-ионы, переносчики электрона, 129
- Гидрогенизация, 110Р, 112
- Гидроксизины, коллагены, 1818, 1820Р
- Гидроксильный ион, 174Р
- Гидроксипролины, 1818, 1820Р, 1824
- Гидроксоний, 109р, 828р, 80, 82
- Гидролиз, 134Р
 - АТФ, *см.* Гидролиз АТФ
 - макромолекул, энергия, 133–137
 - нуклеотидов, *см.* Нуклеотиды, гидролиз
 - сахаров, 86, 88Р, 247–249
- Гидролиз АТФ, 126Р
 - АТФ-синтаза, 1270, 1270Р
 - альтернативный путь, 136Р
 - аминоксил-тРНК-синтазы, 569
 - глутаминсинтаза, 128Р
 - конденсация хромосом, 371
 - митохондриальный импорт белков, 1100–1101
 - подвижность сперматозоидов, 1977
 - скольжение в нуклеосомах, 330–331
 - сопряжение с биосинтетическими реакциями, 128, 128Р, 1267–1269
 - нуклеиновые кислоты, 136, 137Р
 - сопряжение с репликацией ДНК, 418, 418Р
 - сплайсосомы, 539–541
 - фиксация углерода, 1298, 1298Р
- энергетика, 128, 136, 136Р, 1267–1269, 1269Р
- Гидролитическое редактирование, аминоксил-тРНК-синтазы, 570, 570Р
- Гидротермальные источники, 18, 20РР
- Гидрофильные молекулы, 80, 174Р, 954, 956, 957Р, *см. также* Вода
- Гидрофобная хроматография, 791
- Гидрофобные взаимодействия, 176Р, 586
- Гидрофобные молекулы, 80, 174Р, 954, 956, 957Р, *см. также* Вода
 - белки, 600–602
- Гипервариабельный участок, антитело, **2395–2396**
- Гиподерма (подкожный слой), 2169, 2169Р
- Гипоксантин, 460, 462Р
- Гипоксия, активация ангиогенеза, 1871
- Гипопигментация (альбинизм), 1206
- Гипоталамус, циркадные ритмы, 710
- «Гипотеза определения экзона», 541, 542Р
- Гипотеза гистонового кода, **343–346**, 346Р
- Гипотеза мира РНК, 460, 618Р, **616–621**, 627Р, *см. также* Каталитическая РНК; Рибозимы
 - естественный отбор, 621–624
 - ограниченный генетический код?, 626
 - самореплицирующаяся система, 617, 618Р
 - уход от мира пред-РНК, 618–620
- Гиппокамп, рецепторы глутамата, **1061–1063**
- Гистамин, 1234, 2388
 - высвобождение, 1234, 1234Р
 - секреция, 1234Р, **1234**, 2390Р
 - тучные клетки, 2390Р
- Гистидин, 194Р, 844
- Гистология
 - дыхательные пути, **2194–2197**
 - кишечник, **2197–2209**
 - кровеносные сосуды, **2211–2219**
 - печень, **2207–2209**
 - сенсорного эпителия, **2187–2192**
 - эндотелиальные клетки, **2211–2219**
 - эпидермис, **2168–2185**
- Гистон H1, 334, 334Р
- Гистон H2A, 324
 - варианты, 343Р, 731–732
 - взаимодействия, 325, 328Р
 - димер H2В, 446
 - модификации, 331Р

- Гистон H2B, 324
 — взаимодействия, 325, 328P
 — димер H2A, 446
 — модификации, 331P
- Гистон H3, 324
 — варианты, 343P, 732
 — взаимодействия, 325, 328P
 — гипотеза гситонового кода, 344, 344P
 — модификации, 285, 285P, 346, 346P, 446–447, 447P
 — специфичный к центромере вариант CANP-A, 353–355, 355P
 — тетрамер H4, 446–447
- Гистон H4, 324
 — варианты, X-инактивация, 732
 — взаимодействия, 325, 328P, 333–334, 334P
 — модификации, 446–447, 447P
 — тетрамер H3, 446–447
 — эволюционный консерватизм, 327, 406
- Гистонацетилтрансферазы (НАТ), 340, 527, 527P
- Гистондеацетилазы (HDAC), 340, 687P
- Гистоновые шапероны, *см.* Факторы сборки хроматина (CAF)
- Гистоны, **324–331**, *см. также конкретные гистоны*
 — анализ, 324, 325P
 — белок-ДНК взаимодействия, 325–327
 — варианты, 343, 343P
 — гены, 445
 — гистоновый октамер, 324, 325
 — S-фаза, 1645
 — идентификация, 325P
 — сборка, 325, 328P
 — добавление к ДНК (пострепликационное), 446
 — модификация, *см.* Модификация гистонов
 — мутагенез *in vitro*, 327
 — мутации, 327
 — наследование после репликации, 446–447, 447P
 — сворачивание, 325, 327P
 — синтез в S-фазе, 445–446
 — структура, 325, 327, 327, 328P
 — эволюционный консерватизм, 327
- Гистосовместимость, молекула, 2420, *см. также* МНС (главный комплекс гистосовместимости)
- Гистохимическое окрашивание, 852–853, 892, 901P
- Главные регуляторные белки, 2081
- Гладкие мышцы
 — вход кальция, 1580
 — клетки, 2238P, 2238–2239
 — кровеносные сосуды, 1361, 2219
 — механизм работы, 1580
- Гладкий эндоплазматический ретикулум, *см.* Эндоплазматический ретикулум (ЭР), гладкий
- Глаз
 — развитие, генетический контроль, 719, 719P, *см. также конкретные гены*
 — цвет, как полигенный признак, 865
- Гланцмана болезнь (тромбастения), 1800
- Глиальные клетки, 1045P, **2115–2116**
 — радиальные, 2118P
 — синтез миелина, 1042
- Гливек (STI-751), терапия хронического миелоидного лейкоза, 1928
- Гликоген, 143, 148, 148P
- Гликозаминогликаны (GAG), **1808–1810**, *см. также конкретные типы*
 — базальная мембрана, 1788
 — прикрепление белков, *см.* Протеогликаны
 — силы сжатия и, 1810–1811
 — синтез протеогликанов, 1191
 — структура, 1808, 1808P, 1810P
- Гликозилирование, **1191–1193**
 — белков, 597P, 1132P, **1131–1133**, 1147P, *см. также* Эндоплазматический ретикулум (ЭР)
- Гликозилирование белков, 597P, 1132P, **1131–1133**, 1147P, *см. также* Эндоплазматический ретикулум (ЭР)
- Гликозилтрансфераза, функция в фолдинге белков, 1135
- Гликозилфосфатидилинозитольный (GPI) якорь, 971, 980, 1139P, **1139–1140**, 1239
 — протеогликаны поверхности клетки, 1814
- Гликокаликс, 980, 982P
- Гликолиз, **139–143**
 — анаэробный, 139, 1289, *см. также* Брожение
 — запасание энергии за счет сопряжения реакций, **143**, 145P
 — метаболические взаимоотношения, 160P

- путь, 140P, 143, 145, 146P, **185–186**
- роль NAD⁺/NADH, 140
- синтез АТФ (суммарный выход), 140, 186P
- ферменты, **139–140**, 143, 145P, **185–186**,
см. также конкретные ферменты
- хлоропласты, глицеральдегид-3-фосфат, 1311–1312
- эволюция, 139
- энергетика, 143
- Гликолипиды
 - агрегаты, 180P
 - мембраны, 968P, 968–969
 - разнообразие боковых цепей, 980
 - синтез в ЭР, 1141–1143
 - структура, 180P
- Гликопротеины, **979–980**
 - межклеточная адгезия, 980
 - синтез, 1132P, **1131–1133**, 1147P
- Гликофинголипиды
 - липидные рафты, 1239
 - синтез, эндоплазматический ретикулум (ЭР), 1141–1143
 - сортировка белков, **1237–1239**
- Глиобластома, эпидермальный фактор роста (EGF), 1895
- Глиоксилатный цикл, 1109
- Глиоксисома, 1109, 1109P
- Глипикан, 1815
- Глицеральдегид, 177P
- Глицеральдегид-3-фосфат, 143, 145P, 185, 186P, 1299
 - гликолиз, 1311–1312
 - источник углеводов, 1311
 - цикл фиксации углерода, 1311
- Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, 143, 186P
- Глицин, 195P
 - нейромедиаторная роль, 1051, 1240
- Глобин(ы), 391, *см. также конкретные типы*
 - гены, *см. Глобин, гены*
 - гомологи и эволюционное древо, 31P, 391P
 - плода, 391, 391P
- Глобин, гены
 - α -глобин, 391–393
 - β -глобин, *см. β -Глобин ген*
 - δ -глобин, 391–393, 694, 696P
 - γ -глобин, 694, 696P
- кластеры генов, 693–694, 694P, 696P
- эволюция путем удвоения, 391P, **391–393**
- псевдогены, 393
- регуляция экспрессии, 693–696, 696P, *см. также Локус-контролирующая область*
- Глубина поля, электронная микроскопия, 933, 936
- Глутамат (глутаминовая кислота)
 - нейромедиаторная роль, 1051, 1061, 1240
 - структура, 195P
- Глутамин, структура, 195P
- Глутаминсинтетаза, гидролиз АТФ, 128P
- Глутаральдегид, 901, 931, 931P
- Глутатион-S-трансфераза (GST), белковые маркеры, 794–796, 796, 797P
- Глутатиондисмутаза, 1330
- Глухота, мутации коннексина-26, 1783
- Глюкагон, 1514P
- Глюкоза
 - биосинтез дисахаридов, 88P
 - окисление, 88, 157P, 185P, *см. также Гликолиз*
 - общий выход энергии, 1266, 1267T
 - структура, 86P, 177P
 - транспорт, 1013P, 1225
- Глюкозо-6-фосфат, 185P
- Глюкокортикоидный рецептор, регуляция экспрессии гена, 713, 713P
- Глюкокортикоиды, регуляция экспрессии генов, 635, 638, 713, 713P
- Глюконеогенез, 160
- Гной, 2348
- Голодание, высвобождение кортизола, 713
- Гомеобоксные гены, *см. Гомеозисные (гомеобоксные) гены*
- Гомеодомен, ДНК-связывающий мотив, **646–648**, 648P, *см. также Гомеодоменные белки*
- Гомеодоменные белки, **646–648**
 - Wuschel, 2155P
 - ДНК-связывающие, **646–648**, 648P, 661P, 655–665
 - выделение, 660
 - гетеродимеризация, 654P
 - гомологии, 207, 207P, 648
 - растения, 2140

- эволюционный консерватизм, 207Р, 646–648
- Гомеозисная мутация
 - *Arabidopsis*, 2160Р
 - *Drosophila*, 2051, 2051Р
- Гомеозисные (гомеобоксные) гены, 646, 2045Р, **2050–2058**, см. также Гомеодоминантные белки; Нох гены
 - *Drosophila*, см. Гомеозисные гены, *Drosophila melanogaster*
 - Нох комплекс, см. Нох комплекс
 - представители семейства в различных эукариотах, 2142Т
 - развитие цветка, **2160–2161**, 2161Р
 - упорядочивание хромосом в комплексах Нох, 2052–2053
- Гомеозисные гены, *Drosophila melanogaster*, **2050–2058**, см. также конкретные гены
 - *bithorax* и *Antennapedia* комплексы, 2051Р, **2051**
 - Нох комплекс, **2051–2058**, см. также Нох комплекс; Нох гены
 - Polysomb и Trithorax группы белков, 2053, 2055Р
 - гомологии у позвоночных, 2056Р, 2056РР, **2053–2058**
 - механизм памяти, 2053
 - мутации, 2051
 - позиционные значения, 2053
 - последовательная экспрессия гена *Нох*, 2052Р, 2052–2053
 - стратегия модулированного повторения, 2050–2051
- Гомозигота, определение, 852Р
- Гомологичная рекомбинация (кроссинговер), 483, см. также Анализ групп сцепления; Мейоз, **505–1000**
 - белки, 477Р
 - RecA, 488, 492, 492Р, **492–496**
 - биологические функции, 500, 500Р, **505**
 - внедрение цепи, 500
 - генетический обмен, 500, 2060, см. также мейотическую рекомбинацию (ниже)
 - мейотическая рекомбинация, 477–480, 500Р, 1677, 1677Р, 1944, 1948Р, 1948–1950, 1957Р
 - Spo11, 1957
 - генетическое разнообразие и, 1944, 1956Р, **1956–1957**
 - гетеродуплекс, 480, 480Р
 - горячие точки и холодные участки, 1957
 - двойная структура Холлидея, 477, 479Р
 - двухцепочечные разрывы, 477, 500Р
 - конверсия генов, 480
 - контроль кроссинговера, 480
 - не-кроссинговеры, 479–480
 - регуляция, 480, **1957**
 - рекомбинационный комплекс, 1950, 1957
 - формирование хиазмы, 1948, 1948Р, 1951, 1951Р
 - хиазменная интерференция, 1957
 - механизм
 - внедрение (инвазия) цепи, 496
 - выпячивание оснований, 492Р
 - гетеродуплекс, 488, 496
 - гибридизация (синапсис), модели, 496Р
 - миграция точки ветвления, 488Р
 - спаривание оснований, 496, 500
 - структуры Холлидея, см. Холлидея структура
 - обмен цепями, см. Холлидея структура
 - общие свойства, 500, 500Р, **505**
 - регуляция посредством исправления ошибок спаривания, 482Р
 - репарация двухцепочечных разрывов, **476–484**, 484Р, **488–490**, 490Р, 500, 500Р, 505
 - дефекты, 453Р
 - потеря гетерозиготности, 480
 - регуляция, 476, 480
 - «ремонтные фабрики», 480, 480Р
 - эволюционные преимущества, 500
- Гомологичное соединение концов, репарация двухцепочечных разрывов, 490
- Гомологичные гены, 29Р, 29–31, 31Р
- Гомологичные хромосомы (гомологи), 310, 1674, 1944
 - боковые элементы, 1950
 - мейотическая конъюгация, 1676–1677, 1944, 1947–1948, 1948Р, **1948–1950**, 1951Р, см. также Гомологичная рекомбинация (кроссинговер)
 - генетическое разнообразие и, 1944, 1956Р, **1956–1957**

- двухцепочечные разрывы, 1950, 1957
- морфологические изменения, 1950
- нерасхождение, 1893Р, 1954–1956
- образование бивалента, 1948, 1948Р, 1951Р
- половые хромосомы, 1950
- поперечные филаменты, 1951, 1953Р
- сайты конъюгации, 1948
- синапсис, 1950, 1951Р
- синаптонемный комплекс, 1948Р, 1950Р, **1950–1951**
- теломеры и, 1948, 1948Р
- мейотическое расхождение, 1953Р, **1951–1954**
- нерасхождение, 1893Р, 1954–1956
- Гомология, 29Р, 376
- Гомотипическое слияние мембран, 1178, 1179Р
- Гомофильная адгезия, 1746–1749
 - *ср.* гетерофильная, 1748Р
- Гомункулус, 2128
- Гонады, развитие
 - *Sry* ген и развитие семенников, **1961–1964**, 1965Р
 - миграция ППК, 1961Р, **1961**, 1964
- Горение, 1262Р
- Горизонтальный перенос генов, 28Р, **31–32**
 - изменчивость антигенов, 2329
 - эволюционное приобретение, 28
- Гормоны, 1352, *см. также конкретные гормоны*
 - регуляция экспрессии генов, 635, 638, 713, 713Р
- Готовая к экспорту мРНК, 500, 548, 550–551, 551Р
- Грамотрицательные бактерии, 2281Р, 2341
- Грамположительные бактерии, 2281Р, 2341
- Гранзим-В, 2413, 2417Р
- Граничные элементы, *см.* Инсуляторные элементы
- Граничные эффекты, 898Р
- Гранулоцит(ы), 2234, 2234Т, *см. также* Базофилы; Эозинофилы; Нейтрофилы
- Гранулоцитарно-макрофагальные (GM) клетки-предшественники, 2234
- Гранулоцитарно-макрофагальные CSF (GMCSF), 2234Т, 2235Р
- Гранулоцитарные CSF (GCSF), 2234Т
- Гранулы, фагоцитарные клетки, 2350
- Гребенчатый соленоид, модель структуры хроматина, 333, 333Р
- Грибы, 10000
 - диморфизм, 2288
 - патогенные, 2288
 - прионные белки, 612
 - синтез антибиотиков, 589–590
 - эволюционное происхождение, 41–42
- Гриппа вирус(ы), 2292Р, 2331
 - вход в клетку, 1174
 - опосредованное микротрубочками движение по аксону, 2324
 - пандемии, 2331, 2333Р
 - проникновение и декапсидация, 2308Р, 2310
- Груды рак
 - Vgca1/Vgca2 белки, 480
 - вероятность, зависящая от репродуктивной истории, 1883, 1883Р
 - дефекты репарации ДНК, 453Т
 - типичный рост, 1853Р
 - хромосомные отклонения, 1863Р
- Грудной лимфатический проток, 2377, 2377Р
- Груз, 1151, 1152Р, 1177Р
- Груз, рецепторы, 1158
- Грушевидная форма, дрожжи, 1603, 1603Р
- Гуанилилциклаза, *см. также* Рецепторная гуанилилциклаза
 - регуляция, 1361Р, 1363
- Гуанилтрансфераза, 5'-кэпирование мРНК, 531, 533Р
- Гуанин, 302
 - дезаминирование, 462Р
 - спаривание оснований, 303Р
 - структура, 181Р, 462Р
 - структура РНК, 509
- Гуанозинтрифосфат, *см.* GTP (гуанозинтрифосфат, ГТФ)
- Губчатая кость, 2249, 2249Р
- Губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота, 611–612, 2295, *см. также* Прионные белки
- Гуморальный иммунный ответ, **2382–2408**, *см. также* В-клетки; Иммуноглобулин(ы)
- ДАФИ (DAPI) флуоресценция, 904Р
- ДМБА (диметилбензантрацен), как мутагенный химический карциноген, 1878, 1895

- ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), 3, 3Р, *см. также* термины, начинающиеся с «ДНК»
- амплификация посредством ПЦР, *см.* Полимеразная цепная реакция (ПЦР)
 - анализ, **820–850**
 - белковые взаимодействия, *см.* Белок-ДНК взаимодействия
 - гибридизация, *см.* Гибридизация ДНК
 - изгиб, *см.* Изгиб ДНК
 - история исследований, 299–300, 302, 505
 - — идентификация как генетического материала, 299–300, 300Р, 302, 303Р
 - — расшифровка структуры, 299–300, 302, 505
 - — эксперименты с *Streptococcus pneumoniae*, 300Р, 303Р
 - катенация (сцепление), 1646
 - клеточная макромолекула, 96Р
 - клонирование, *см.* кДНК
 - кодирование информации, **305–307**, 505, 506Р, 508, *см. также* Последовательность ДНК; Генетический код; Геном(ы)
 - — ДНК делает РНК делает белок, 508, 508Р
 - — как универсальное хранилище информации, **2**, 456, 627
 - — связь с белками, 305Р, 305–307
 - линкерная, 324
 - локализация, 308Р, 307–322, *см. также* Ядро
 - манипуляция, *см.* Метод рекомбинантных ДНК
 - мечение, 823
 - некодирующая, *см.* Некодирующая ДНК
 - «отпечаток пальца», 841, 843Р
 - повреждение, *см.* Повреждение ДНК
 - повторы, *см.* Повторы ДНК
 - полимеризация по шаблону, 3Р, 3–5
 - полярность, 3Р
 - разделение двух кольцевых молекул ДНК, ДНК-топоизомераза II, 431Р
 - распутывание
 - — репликация, 418, 418Р
 - — транскрипция, 511
 - регуляторная, *см.* Регуляторная ДНК
 - рекомбинация, *см.* Рекомбинация
 - репарация, *см.* Репарация ДНК
 - репликация, *см.* Репликация ДНК
 - синтез, *см.* Синтез ДНК
 - сохранение, **404–406**, *см. также* Репарация ДНК
 - — сбой, 404, 406, 1859, *см. также* Рак; Повреждение ДНК; Мутация/и
 - — эволюция генома, 376–378
 - структура, *см.* Структура ДНК
 - теломерная, 322, *см. также* Теломеры
 - упаковка, **310–334**, 336, *см. также* Хроматин; Нуклеосома/ы, *см. также* Хромосома/ы; Структура хромосом
 - — компактизация, 322–324
 - — упаковка хроматина, 371, 373Р
 - химический синтез, 844
 - хроматография, ДНК-связывающие белки, 658–660, 660Р
- ДНК-ДНК взаимодействия, 496Р
- гибридизация, *см.* Гибридизация ДНК
- ДНК-белок взаимодействия, *см.* Белок-ДНК взаимодействия
- ДНК-вирусы, 2292, 2293Р
- в раке, 1880–1881, 1881Т, *см. также* ДНК-содержащие онкогенные вирусы
- ДНК-гликозилазы, 456–457
- механизм, 459Р
 - узнавание повреждения ДНК, 460Р, 460–462
- ДНК-зонд(ы), 823, 826Р
- обнаружение нуклеиновых кислот, 831Р, 831–833, *см. также* Гибридизация ДНК
- ДНК-лигазы
- клонирование ДНК, 833–834, 834Р
 - механизм реакции, 418Р
 - репарация ДНК, 453Т, 476–490
 - синтез отстающей нити ДНК, 416
- ДНК-метилазы, *см.* ДНК-метилтрансферазы
- ДНК-метилтрансферазы, 436Р, 721
- ДНК-метки, 823
- ДНК-повреждающие агенты, *см. также* Мутагенез
- ионизирующая радиация, 460–462, *см. также* Ультрафиолетовое (УФ) излучение
 - карциногены, *см.* Карциногены
 - чувствительность, дефекты репарации ДНК, 453Т

- ДНК-полимеразы, 408, *см. также конкретные ферменты*
 — dNTP субстраты, 408, 409, 410P
 — T7-полимераза, 411
 — вирусные, 2324
 — движение вдоль ДНК, 418–419
 — каталитический механизм, 409, 410P
 — кооперативность, 421–423
 — коррекция, 411–413, 413P, *см. также* Исправление ошибок спаривания (mismatch-репарация)
 — репарация ДНК, 476
 — скользящий зажим, 421P, 419–423, 423P
 — *ср.* РНК-полимеразы, 512, 514
 — структура, 410P
 — термофильные, 839, *см. также* Полимеразная цепная реакция (ПЦР)
 — точность, 411
 — удлинение цепи 5'-3', 409, 410P
 — эукариотические, 429, 431P, 449P, 451P, 453T
 ДНК-праймазы, 416, 416P, 418, 423P
 — бактериальный DnaG, 434P
 — механизм работы, 432, 434P
 — эукариотические, 429
 ДНК-связывающие белки, 657P, *см. также* Репликация ДНК; Белки-регуляторы генов; Белок-ДНК взаимодействия
 — SSB, *см.* SSB (белки, связывающие одноцепочечную ДНК)
 — ДНК-связывающие мотивы, *см.* ДНК-связывающие мотивы (белковые)
 — белки «спираль-поворот-спираль», 646P, 646–648
 — гомеодоменные белки, *см.* Гомеодоменные белки
 — белки с «лейциновой молнией», 651, 652P, 654P
 — белки с «цинковыми пальцами», 648–649, 649P, 651P
 — гистоны, *см.* Гистоны
 — димеризация, 646, 646P, 649
 — гетеродимеризация, 652–654, 654PP
 — гомодимеризация, 652, 654P
 — репрессор Cro, 214, 214P
 — функциональная роль, 651
 — последовательность-специфичные, 661P
 — аффинная хроматография, 658–660, 660P
 — взаимодействия цинковых пальцев, 657P
 — иммунопреципитация хроматина, 665, 665P
 — определение последовательности ДНК, 661P, 660–663
 — сдвиг электрофоретической подвижности, 657–658, 658P
 — предсказание участков связывания, 655
 — связывание большой бороздки, 651, 652P
 — связывание малой бороздки, 651, 652P
 — связь со структурой ДНК, 640–642, 642P, 645, *см. также* Структура ДНК
 ДНК-связывающие красители, анализ клеточного цикла, 1629
 ДНК-связывающие мотивы (белковые), 640–699, *см. также* Белок-ДНК взаимодействия
 — β -лист, 649, 651
 — ДНК-связывающие гомеодомены, парные домены, 212
 — взаимодействие белок-ДНК, 642, 644–645, *см. также* Структура ДНК
 — узнавание спаренных оснований, 642, 642P
 — лейциновая молния, 651, 652P
 — мотив спираль-петля-спираль, 654–655, 655P
 — мотив спираль-поворот-спираль, 645–646, *см. также* Гомеодоменные белки
 — гомеодомен, 646–648, 648P
 — структура, 645, 646P
 — узнающая спираль, 645, 646P
 — регуляторные белки, 644T, 644–645
 — цинковые пальцы, 648–649, 649P, 651P
 ДНК-содержащие онкогенные вирусы, 1910P, 1908–1911
 ДНК-топоизомеразы, 426
 — каталитическая реакция, 428P
 — механизм работы, 426–428, 428, 429P
 — роль в репликации ДНК, 426–429, *см. также* Репликация ДНК
 — *ср.* интегграза лямбда, 495
 — топоизомераза I, 426, 428P
 — топоизомераза II, 426–428, 429P, 431P
 ДНК-транспозоны, 486P, 486T, 494

- транспозиция посредством вырезания-вставки, 486Т, 488, 489Р
- ДНК-хеликазы, 418, 419Р
- DnaВ белок, 434Р
- TFIIH факторы транскрипции, 522–523
- дефекты, 453Т
- ингибирование, DnaС белок, 434Р
- механизм работы, 418, 432, 434Р
- проверка активности, 418Р
- ДНК-чипы, 882
- анализ клеточного цикла, 1637
- анализ репликационной вилки, 438, 440Р
- анализ экспрессии генов, 828, **882–884**
- — гены человека, 635
- — кластерный анализ, 884, 884Р
- — типирование раковых клеток, 637Р, 1898, 1911, 1932
- метастазы, 1911
- методология, 882, 882Р
- размеры, 882
- ДСН (додецилсульфат натрия), 798, 798Р
- ДСН-ПААГ, 798, 800Р, 982, *см. также* Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ)
- растворимость мембранных белков, 982
- ДСН-ПААГ, 798, 800Р, 982
- Давление естественного отбора, устойчивость к антибиотикам, 2335
- Дальтон, определение, 68
- Данио, 390, 855, 911Р, 2128Р
- Дауна синдром, мейотическое нерасхождение, 1954–1956
- Двойная проверка, корректировка ДНК-полимеразы, 411
- Двойные связи, углерод-углерод, 730, 732–734, 734Р
- Двугибридные методы, 807–808, 808Р, *см. также* Белок-белковые взаимодействия
- Двугибридные системы, 807–808, 808Р
- Двумерный электрофорез в полиакриламидном геле, 804–805
- анализ экспрессии генов, 635, 637Р
- визуализация радиоавтография, 805Р
- этап ДСН-ПААГ, 804–805
- этап изоэлектрического фокусирования, 804, 804, 805Р
- Двунаправленная сигнализация, Eph-рецепторы и эфрины, 1516
- Двунитевые разрывы
 - гомологическое спаривание/мейотическая рекомбинация, 477, 500Р, 1950, 1957
 - образование, 460–462
 - образование топоизомеразой II, 429Р
 - репарация, **476–484**, **488–490**, 490Р, 500, *см. также* Гомологичная рекомбинация (кроссинговер), 505–10000
 - — дефекты, 453Т
- Двухкомпонентный сигнальный путь/система, 1517, 1517Р
- Двухфотонный эффект, конфокальная микроскопия, 911, 911Р
- Двухцепочечная РНК (дцРНК), вирусы, 2352
- Деаденилирование-независимое разрушение ДНК, 759, 759Р
- Деаденилирование-связанное разрушение ДНК, 759, 759Р
- Дегидрогенизация, 110Р, 112
- Деградации сигналы, белки, 609Р
- Дезаминаза, индуцируемая активацией (AID), 2406Р, 2408
- Дезаминирование, 454, 456Р, 462Р
 - 5-метилцитозин, 725
 - механизм мутагенеза, 725
 - роль в метилировании ДНК, 460–462, 462Р
 - синтез гипоксантина, 460, 462Р
 - синтез инозина, 566, 566Р, 746, 746Р
- Дезоксирибоза, 181Р, 509Р
- Дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (dNTP), 408, 410Р
- Декорин, 1811–1813, 1813Р, 1815Т
- Декэпирование, 759
- Деление клеток, 1620, 1623Р, *см. также* Клеточный цикл; Рост клеток; Пролиферация клеток; Цитокинез; Мейоз; Митоз
 - асимметричное, 1688Р, **1688**
 - — зародыш *C. elegans*, 2021Р, **2021–2023**
 - — ооциты, 1970Р, 1970–1972
 - — развитие растений, 2142
 - баланс клеточной смерти, 1692
 - зависящее от плотности ингибирование (контактное ингибирование), 1703, 1888–1890
 - задержка, 1693
 - контроль общей массы клеток, **1704–1706**

- координация роста и деления, 1701P, **1700–1703**
- ограничение, 1629, **1699**, *см. также* Репликативное старение клеток
- зависящие от плотности, 1703, 1888–1890
- плоскость, **1681–1685**
- растительные клетки, 1831
- регуляция, **1691–1706**, *см. также* конкретные факторы
- зависящая от плотности (контактное ингибирование), 1703P, **1703**
- митогены, *см.* Митоген(ы)
- ответ на повреждение ДНК, **1696–1699**
- роль цитоскелета, 1519, 1519P
- стволовые клетки, 2180
- численность клеток и, 1692
- Делеции, хромосомные, *см.* Хромосомные делеции
- Дельта G (ΔG), *см.* Изменение свободной энергии Дельта G (ΔG)
- Делящиеся дрожжи, *см. также* *Schizosaccharomyces pombe*
- клеточный цикл, 1624P, 1624–1626
- форма мутантов, 35P
- Денатурация белка, 197
- Дендрит(ы), 1607, 1612P, 2120–2122, 2122P
- нейронные вычисления, 1057P
- нервная сигнализация, 1038
- ориентация микротрубочек, 1610
- Дендритные клетки, 2351, 2365, 2413P, **2413–2415**
- Toll-подобные рецепторы (TLR), 2348, 2355
- активация, 2413, 2442–2443
- белки NOD, 2355
- костимулирующие белки, 2413
- молекулы межклеточной адгезии, 2413
- неактивированные, 2413
- паттерн-распознающие рецепторы, 2355, 2413
- распределение, 2413
- созревание, 2413
- устранение аутореактивных Т-клеток, 2443
- фагоцитоз, **1208**, 2222
- функции, 2365, 2365P, 2446P, 2448
- экспрессия МНС, 2413, 2442
- Депуринизация (апуринизация), 454, 456P, 456–457, 457P, 459P
- Дерма, 2169, 2169P, 2260
- Дерматансульфат, 1808
- Десенсибилизация, *см.* Адаптация
- Десмин, 1521, 1521T
- Десмогелины, 1745, 1748T
- Десмоколлин, 1745, 1748T
- Десмосомы, 1742, 1742P, 1744T, **1756–1758**, 1758P, 1805T
- кератиновые филаменты, 1521
- Десмотрубочка, 1784
- Дестабилизирующие спираль белки, *см.* SSB (белки, связывающие одноцепочечную ДНК)
- Детергент(ы), 798, 798P, 983, 984P, *см. также конкретные детергенты*
- растворимость мембранных белков, 980–986
- *ср.* ионные и неионные, 980
- Детерминанты клеточной судьбы, асимметричное деление клеток, 1688
- Детоксикация, гладкий эндоплазматический ретикулум, 1114
- Дефензины, 2339–2340, 2351
- Дефицит лейкоцитарной адгезии, 1800
- Дефосфорилирование, 266, 266P, *см. также* Протеинфосфатазы
- Диабет, 2377
- Диакinesis, 1950, 1951
- Диapedез, *см.* Лимфоцит(ы), рециркуляция
- Диарея
- распространение *Salmonella enterica*, 2326
- распространение инфекции, 2277–2278
- с кровью, при дизентерии, 2283
- энтеропатогенная *E. coli*, 2304
- Диацилглицерин, 1515
- Дивергенция (эволюционная), *см. также* Дупликация генов
- анализ частоты мутаций, 405
- видов, 405
- филогенетика, 378, 378, 379P
- Дигидроксиацетон, 177P
- Дигидроксиацетонфосфат, 185P
- Дигидроуридин, модификация тРНК, 565, 566P
- Дигидрофолатредуктаза, лечение рака, 1927
- Дидезокси-секвенирование ДНК, 846–847

- Дизентерия, эпидемия, 2283
 Дизинтегрины, 1828
 Димеры, образование, *см. также* ДНК-связывающие белки
 — белки, 214Р
 — повреждение ДНК, 454, 457Р
 Диметилбензантрацен (ДМБА), 1878, 1895
 Динамин, 1160Р, **1161–1163**, 1163Р
 Динамическая нестабильность, цитоскелетные филаменты, 1520, 1521Р
 — гидролиз нуклеотидов, 1520Р
 — катастрофа, 1520, 1538
 — микротрубочек, *см.* Микротрубочки
 — спасение, 1520, 1521Р
 — *ср.* катастрофа и спасение, 1658
 Динеин(ы), **1556–1558**, 1558Р, 1561, 1562Р
 — аксонемные, 1558
 — биение ресничек и лево-правая асимметрия, 2105
 — гидролиз АТФ, 1562
 — линкерный участок, 1562
 — механохимический цикл, 1562
 — митотическое веретено деления, 1653, 1653Р, 1656
 — наложение силы, 1561
 — прикрепление к мембранным органеллам, 1567, 1567Р
 — рабочий ход, 1562, 1562Р
 — цитоплазматические, 1556
 Динитрофенил, 2370, 2370Р
 Диоксид углерода, *см.* Углекислый газ (диоксид углерода, CO₂)
 Диплоидные клетки
 — жизненный цикл дрожжей, 48, 48Р
 — классическая генетика, 852Р
 — половое размножение, 1941, 1942Р, *см. также* Мейоз
 Диплотена, 1950–1951, 1957, 1968
 Диполи, ковалентные связи, 77
 Дисахариды, 86, 88Р, 178Р
 Дискератоз врожденный, 451
 Дислокация белков, *см.* Ретротранслокация, неправильно свернутые белки
 Диссоциации константа ($k_{\text{дис}}$), 238Р
 Дистрофин, 2242
 Дисульфидные связи/мостики
 — аминокислоты, 195Р, 221–223
 — устойчивость белков, 221Р, 221–223
 — электрофорез, 800Р
 Дифракционные пятна, 814, 814Р
 Дифференциальная интерференционная микроскопия, 898, *см. также* Фазово-контрастная микроскопия
 Дифференциальный интерференционный контрастный микроскоп, 898
 Дифференцировка клеток, 634, **699–736**, *см. также* Генетика развития; Регуляция экспрессии генов
 — общие процессы, 635
 — перестройки ДНК, фазовая вариация у бактерий, 699–701, 701Р
 — постоянство генома, 634–635, 636Р
 — профиль (паттерн) экспрессии генов, 635, 715Р, 715–717, 717Р, *см. также* Комбинаторный контроль
 — различия белков, 635
 — различные ответы на внеклеточные сигналы, 638, 715
 — рак и, **1863–1864**
 — специализация, 635
 — терминальная, 1693
 Диффузионно-лимитированный ферментативный катализ, 245, 245Т, 254
 Диффузия, случайная природа, 115, 117Р
 Длинные рассеянные элементы, *см.* LINE (L1) элементы
 Додецилсульфат натрия, *см.* ДСН (додецилсульфат натрия)
 Докинг-белок, субстрат рецептора инсулина (IRS-1), 1516
 Долговременная депрессия (LTD), синаптическая регуляция, 1061
 Долговременная потенция (LTP), действие, 1061, 1063Р
 Долихол, гликозилирование белков, 1132, 1133Р, 1147Р
 Долихолфосфат, 180Р
 Долли, овечка, 1967
 Домен гомологии к плекстрину (РН-домен), 1517
 Домены взаимодействия, клеточная сигнализация, 1375
 Доминантно-негативные мутации, 814Р, 867Р
 — РНК-интерференция, 867Р
 — антисмысловая РНК, 867Р

- генетическая инженерия, **867**
- Дополнительные рецепторы, Т-клетки, 2427
- Дорсальная губа бластопора, 2090Р, 2090–2091
- Дофамин, регуляция проницаемости щелевых контактов, 1784, 1784Р
- Древо жизни, **18–20, 23–24**
- «Дробовика» метод, клонирование ДНК, 836, 848
- Дрожжевые искусственные хромосомы (YAC), 834, 836Р
- Дрожжи, 47, 933Р, 2288
 - анализ экспрессии генов, **48–50**
 - брожение, 142, *см. также* Гликолиз
 - в древе жизни, 24Р
 - вакуоли, лизосомальные свойства, **1199–1200**
 - генетика, *см.* Дрожжи, генетика
 - геном, 48, 486Т
 - грушевидная форма, 1603, 1603Р
 - двугибридные методы, белок-белковые взаимодействия, 807–808, 808Р
 - делящиеся дрожжи, *см.* Делящиеся дрожжи
 - «исключительно белковое наследование», 612, 612Р
 - исследования белкового транспорта, 1080Р
 - как модельные эукариоты, **47–48**
 - карта метаболизма, 160Р
 - контроль клеточного цикла, 1624Р, **1624–1626, 1626Р, 1633, 1635Р**
 - митохондрии, 1315, 1317Р, 1329Р
 - ДНК, 1323–1326, 1326Р, **1327–1329**
 - половое размножение, *ср.* гаплоидные и диплоидные клетки, 1941–1942, 1942Р
 - почкующиеся, *см.* Почкующиеся дрожжи
 - репликация хромосом, 322
 - *ср. E. coli*, 48
 - удобство использования как модельных организмов, 1624
 - циклы воспроизводства, 48Р
- Дрожжи, генетика
 - белки-регуляторы генов, узнавание последовательности ДНК, 644Т
 - митохондриальная ДНК, 1323
 - карликовые мутанты, **1327–1329**
 - наследование, 1324–1326, 1326Р
 - мутагенез, кассеты делеции, 875
- Дупликация ДНК
 - гены, *см.* Дупликация генов
 - рекомбинация экзонов, 393
 - хромосомы, *см.* Дупликация хромосом
 - целый геном, 55–56, 56Р, 390
 - эволюция генома, 376–378
- Дупликация хромосом
 - S-фаза клеточного цикла, 1622
 - дупликация хроматина, **1643–1645**
 - регуляция, 1640, 1642Р
 - *ср.* дупликация центросом, 1655
- Дыхание
 - окисление органических молекул, 108
 - связь с фотосинтезом, 108, 108Р
 - эволюционные аспекты, 1338–1340
- Дыхательная цепь, *см.* Электрон-транспортные цепи; Ферментные комплексы дыхательной цепи
- Дыхательный взрыв, фагоцитоз, 2350
- Дыхательный контроль, **1286–1288**
- Дыхательный эпителий, 2195, 2195Р
 - колонизация, 2301, 2303
 - слизь, как защитный механизм, 2301, 2339
 - функция, 2301
- Единица эволюционного времени, эволюция белков, 406
- Естественная иммунологическая толерантность, 2373, *см. также* Иммунологическая толерантность
- Естественный отбор, **24–26, см. также** Эволюция
 - аллели, 862–864, 864Р
 - в прогрессии опухоли, **1859–1860**
 - конформация белка, 206
 - мутации, 405, 406, *см. также* Мутация/и
 - очищающий отбор, 378
 - половое размножение и, 1944
 - самореплицирующиеся молекулы, 621–624
- Жаберные дуги, 2055
- Жгутик, **1582–1587**
 - бактериальный, 21Р, 1517, 1517Р, 1585, 2281Р
 - протонный градиент, 1263–1264, 1266Р, 1289Р, 1289–1290
 - сперматозоида, 1977, 1977Р
 - сравнение с ресничками, 1582

- Железо, эндоцитоз, 1219
- Железо-медный кластер, цитохромоксидаз-ный комплекс, 1279–1282
- Железо-серные белки, 1276Р, 1277
- Железо-серный кластер, 1276Р, 1277, 1308
- Желток, 1967, 1972
- Желточные гранулы, 1967
- Желудка рак, связь с *Helicobacter pylori*, 2303
- Желудок
- колонизация бактериями, 2303
 - рак, связь с *Helicobacter pylori*, 1881, 1883, 2303
 - эпителий, 2197
 - язвы, 1881, 2303
- Желудочно-кишечная защита, против патогенов, 2340Р
- Желудочный сок, секреция, 2197
- Желчь, 2208
- Жидкая фаза, эндоцитоз, 1211
- Жидкостная хроматография, 805
- Жизнь, 1
- автокаталитический процесс, 9Р
 - общие свойства, 1–17
- Жир(ы), *см. также* Липид(ы); *конкретные типы*
- запасание, 10Р, 143, 148
 - источник энергии, 143, 148, 151, 1267Т
 - пищеварение, 151
 - состав, 90–91, *см. также* Жирные кислоты
 - структура, 152Р
- Жирные белки (суперсемейство кадгеринов), 1746, 1748Т
- Жирные кислоты, 90Р, **90–91**, 149, **179–180**, *см. также конкретные типы*
- компоненты клеточной мембраны, 90–91, 91Р, *см. также* Мембрана/ы; Фосфолипид(ы)
 - мобилизация, 151Р
 - окисление, 151–152, 152Р
 - синтез, 1312
- Жировые капли, 2255
- Жировые клетки, 964, 2257Р, 2257РР, 2255–2259
- регуляция экспрессии генов, глюкокортикоиды, 638
- Заболевания репарации ДНК, 425, 453Т, 453–454, 505, 1697, *см. также* Рак; *конкретные заболевания*
- Зависимость от связи с субстратом, 1802Р, **1802–1803**
- Замена гена, генетическая инженерия, 869Р
- Замена оснований, мутации, 376
- Замораживание-скальвание, электронная микроскопия, 939Р
- Замороженные срезы, 901
- Замыкающая пластинка, *см.* Плотные контакты
- «Запертые» молекулы, 915–916, 916Р, 918Р
- Запирающие контакты, 1740, 1740Р, 1741Т, *см. также конкретные типы*
- Заполняющие пространство модели, 77
- белкового SH2-домена, 201Р
 - лизозим, 247Р
 - молекулы белков, 217Р
- Зародыш, *см.* Эмбрион/Эмбриогенез
- Зародышевая линия
- ДНК, гены антител, 2399Р
 - белок Vasa в детерминации, 2023
 - замена гена, *см.* Трансгенные организмы
 - мутации, 405, 406, 884
 - обратная генетика, 884
 - роль Р-гранул, 2021–2023
 - функции, 406Р
- Зародышевые листки, 2086Р, 2086–2088
- Зародышевые центры, созревание аффинности антител, 2404
- «Застежки» принцип, 10000
- интегрины, 1800
 - кадгерины, 1748–1749, 1749Р
- Затравочная цепь (праймер), синтез ДНК, 1968, 1970Р
- Защитные системы хозяина, 2300–2301
- преодоление патогенами, **2301–2304**
 - изменчивость антигенов, 2327–2329
 - эпителий, 2339–2340
- Зеленые серные бактерии, электронный транспорт, 1337Р
- Зеленый флуоресцентный белок (GFP), 911–913, 915Р
- внутриклеточная визуализация, *см.* Резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET)

- исследования везикулярного и внутриклеточного транспорта, 1157P
- регуляция экспрессии генов, 734–736
- структура, 913P
- Зельвегера синдром, 1111
- Земноводные, *см. также Xenopus; отдельные виды*
- размер генома, 42–44
- хромосомы типа «ламповой щетки», 358, 359P
- эмбрионы, *см. также Xenopus laevis* развитие
 - гастрюляция, 2084–2093
 - полярность, 2084
- Зернистые клетки, 1973, 1973P, 1983
- Зернистый слой эпидермиса, 2171, 2171P
- Зигзагообразная модель, формирование 30-нм фибриллы, 333, 333P
- Зигота, 1941, *см. также* Оплодотворение
 - гены зиготического эффекта, 2043
 - клонирование, сохранение генома, 634, 636P
 - центриоли, 1988P, **1988**
- Зиготена, 1950
- Зиготический эффект, гены, 2043
- Зимогены, 1217
- Злокачественность, *см. Рак*
- Зоны ускоренного развития человека (HAR), 387
- Зрелая наивная В-клетка, 2384
- Зрительная кора, столбики доминирования глаз, 2134P
- Зрительная трансдукция, **1515**, *см. также* Аррестин; Родопсин; Палочки (фоторецепторы палочек)
 - адаптация, 1515, 1515P
 - усиление сигнала в фоторецепторах палочек, 1515, 1515P
 - фоторецепторные клетки, 1515
- Зрительные связи, в коре млекопитающих, 2134–2135
 - влияние зрительного опыта, 2134P, 2134–2135
 - разделение входящих сигналов правого и левого глаз, 2134, 2134P
- Зрительный бугор, 2128, 2128P
 - нейронная избирательность и ретино-текстальная карта, 2129–2131
- Зрительный нерв, регенерация у лягушки, 2128
- Зрительный опыт, влияние на столбики доминирования глаз, 2134P
- Идентификация белков, **801–820**, *см. также* Анализ белков; Очистка белков
 - масс-спектрометрия, 801–804
- Идзумо белок, 1983
- Избыточность, генетическая, **56**
- Изгиб ДНК, *см. также* ДНК-связывающие белки
 - белки, сборка регуляторных комплексов, 687, 688P
 - взаимодействия нуклеосом с ДНК, 328P
- Изменение свободной энергии Дельта G (ΔG), **117–123**, **184P**
 - влияние концентраций, 119
 - константы равновесия, 119, 121T
 - перенос электрона, 1274
 - последовательные реакции, 121–123
 - расчет, окислительно-восстановительные потенциалы, 1276
 - сопряжение реакций, 119P, 123P, 1269, 1269P
- Изменчивость антигенов, 2327P, 2327–2329
- Изолейцин, структура, 195P
- Изомеры, 86
 - аминокислоты, 194P
 - сахара, 177P
- Изотопы, 925, 925T
 - радиоактивные, *см. Радиоизотопы*
- Изоцитрат, 187, 188P
- Изоцитратдегидрогеназа, 188P
- Изоэлектрическое фокусирование, двумерный гель-электрофорез, 804, 804, 805P
- Имагинальные диски, **2061–2064**
 - имагинальный диск крыла, 2071P
 - контроль роста, 2067–2069
- Имаго, 2031
- Иммунная электронная микроскопия коллоидного золота, **933–935**, 935PP
- Иммунные комплексы, 2384P
- Иммунные ответы, опосредованные клетками, 2363, 2363P, **2363–2381**, **2410–2441**, *см. также* МНС (главный комплекс гистосовместимости); Т-клетки; Т-клеточные рецепторы
 - внутриклеточные патогены, 2415

- реакция на трансплантацию, 2420
- Иммунный ответ/система
 - врожденный, 2274, **2338–2357**, 2361, 2363PP, *см. также* Фагоцитоз
 - ответ на вирусы, 2352–2355
 - роль Toll-подобных рецепторов, 2346
 - *ср.* приобретенный, 2361, 2363PP
 - узнавание патогенов, 2343, 2355
 - функция, 2338
 - эволюция, 2338, 2348
 - приобретенный, **2364–2365**, 2365P, 2370, *см. также* В-клетки; Иммуноглобулин(ы); Т-клетки
 - белки МНС, *см.* МНС (главный комплекс гистосовместимости)
 - система комплемента, *см.* Система комплемента
 - *ср.* врожденный, 2361, 2363PP
 - *ср.* клеточно-опосредованный и антитела, 2363, 2363P
 - *ср.* первичный и вторичный, **2372**
- Иммуноблоттинг, 800, 801P
- Иммуноглобулин α (Ig α), 2457P
- Иммуноглобулин β (Ig β), 2457P
- Иммуноглобулин А (IgA), 2388PP, **2388**, 2390T
 - переключение класса, 2406
 - тяжелая цепь, 2384
- Иммуноглобулин D (IgD), 2390T
 - переключение класса, 2406
 - развитие В-клеток, **2384**
 - тяжелая цепь, 2384
- Иммуноглобулин E (IgE), **2388**, 2390T
 - аллергические реакции, 2390P
 - переключение класса, 2406
 - секреция гистаминов, 2390P
 - тяжелая цепь, 2384
- Иммуноглобулин G (IgG), 2384, **2385–2388**, 2390T, 2393P, 2395P
 - переключение класса, 2406
 - структура, 2396P
- Иммуноглобулин M (IgM), **2384–2385**, 2387P, 2390T
 - активация комплемента, 2385
 - переключение класса, 2406, 2408P
 - трансмембранный, 2457P
- Иммуноглобулин(ы), 2363, 2382P, 2385P, 2390T, **2382–2396**, **2398–2408**
 - авидность, 2391
 - гены
 - выбор локуса, развитие В-клеток, 2404P
 - посттранскрипционная регуляция, 568
 - сегменты, **2398**, 2399PP, **2399**, 2401–2403
 - иммуноглобулин α (Ig α), 2457P
 - иммуноглобулин β (Ig β), 2457P
 - классы, 2384–2390, 2390T, *см. также конкретные типы*
 - мембраносвязанная форма, 2390
 - моноклональные, *см.* Моноклональные антитела
 - ответы, 2363, 2363P, *см. также конкретные типы*
 - первичный и вторичный, 905, 2372P
 - переключение класса, *см.* Переключение класса
 - применение
 - FACS, 776, 777P
 - иммунопреципитация, 663–665, 665P
 - иммунофлуоресцентная микроскопия, 904P, **905–907**
 - иммуноэлектронная микроскопия, **933–935**, 935P
 - методы разделения клеток, 776
 - микроинъекция, 920, 921
 - моноклональные антитела, 786
 - флуоресцентное мечение, 776, 905
 - синтез, *см. также* В-клетки
 - *in vitro* посредством гибридом, **785–786**, 786P
 - в эндоплазматическом ретикулуме, 1178P
 - сродство, 2391
 - структура, 235, 237P, 2391P, 2391–2393, 2393P, 2395P
 - Ig домены, 2393, 2393P, 2395P
 - гипервариабельный участок, 237P, 2393, 2393P, **2395–2396**
 - иммуноглобулиновый фолд, 210P
 - легкие (L) цепи, *см.* Легкие цепи (L-цепи) антител
 - пары доменов, 212
 - сайты связывания, *см.* Антиген-связывающий участок
 - тяжелые (H) цепи, *см.* Тяжелые цепи (H-цепи) антител

- хвостовая (Fc) область, 2382P, 2385P, 2387, 2387P, 2393
- шарнирный участок, 2382, 2384, 2385P
- увеличение разнообразия, 2408P, **2398–2410**
- эволюция, рекомбинация экзонов, 393P
- Иммуноглобулин-подобный домен, 2395P, 2457
- Иммуноглобулиновый фолд, 210P
- Иммуноглобулины, суперсемейство, 2395, 2457P, **2457–2458**, *см. также* Иммуноглобулин(ы); *конкретных представителей*
- альтернативный сплайсинг, 1761–1762
- клеточная адгезия, 1759, **1761–1762**, 1805T
- формирование синапса и, 1762–1764
- лиганды $\beta 2$ интегрин, 1800
- структуры, 1762P
- эволюция, 393P
- иммуноглобулиновый фолд, 210
- Иммунологическая память, 2372P, **2372**
- Иммунологическая толерантность, **2373–2377**
- аутоиммунный регулятор (AIRE), 2439
- клональная делеция, 2375, 2375P
- неактивированные дендритные клетки, 2413
- периферическая, 2437–2439
- приобретенная, 2372, 2373P, **2373**
- редактирование рецепторов, 2375, 2375P
- «свой» антиген, 2375P
- Иммунологический синапс, 2417, **2443**
- В-клетки/Т-хелперы, 2453T
- коммуникационные соединения, 1740
- Иммунопреципитация, 665, 665P, 705
- Иммуностимуляторы, связанные с патогенами, 2340–2341, 2341P
- Импринтинг, *см.* Геномный импринтинг
- Инвазин, 2311
- Инвазия (внедрение) цепи, гомологичная рекомбинация, 496, 500
- Инвариантная цепь, 2433, 2451P
- Инвариантный карман, белок МНС, 2423–2424, 2425P
- Инверсии, эволюция генома, 376–378
- Инвертированные повторы, ДНК-транспозоны, 486T, 488P
- Инволюкрин, 2171
- Ингибиторный G-белок (G_i), 1514
- Ингибиторы апоптоза (IAP), **1726–1728**
- Ингибиторы диссоциации гуаниновых оснований (GDI), 1516
- Индекс мечения, 1629
- Индуктивные сигналы, развитие, 2007, *см. также конкретные сигналы*
- последовательные, **2016–2017**
- роль гастроляции, 2091P
- Индущированная повторяющейся ДНК рекомбинация, предотвращение, 482P
- Индущированная соматическая рекомбинация, 2060, 2061P
- Индущированное сближение, 281–283
- Индущируемые промоторы, 867
- Индущируемый при гипоксии фактор 1 (HIF1), 186, 2216–2217
- Инициатор канцерогенеза, 1878, 1880
- Инициаторная tPHK, 584
- Инициаторный кодон, 563P, 584, **754–757**
- Инициаторный комплекс, транскрипция, 523
- Инициация репликации ДНК, **431–432**
- ORC (комплекс узнавания точки начала репликации), 442
- бактериальные хромосомы, 432, 434PP, 436P
- белки, 431, 432, 434P, 1640
- регуляция, 432
- точки начала, *см.* Точка начала репликации (ориджин)
- эукариотические, 445P, 1640, 1642P
- преинициаторный комплекс, 1640
- пререпликативный комплекс, 1640–1642, 1642P
- Иннексины, 1779
- Инозин, 566, 566P, 746, 746P
- Инозитол-1,5-трифосфат (IP_3), 5, 1515, 1515P, 1515PP
- мембраны, 1515
- роль в активации яйцеклетки, 1985
- Инозитолфосфолипиды, 963, 967P, 1161, 1161P, 1515P, **1517**, *см. также конкретные типы*
- локализация в клетке, 1163P
- ретромеры, 1160
- сигнальный путь, **1515**, 1515P, 1515PP, *см. также* Фосфолипаза С
- фосфатидилинозитол (PI), 1140, 1515P

- фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат [PI(4,5)P₂], 1515, 1515P
- фосфоинозитид-3-киназа, в раке, 1904
- Инсерционный мутагенез, 855, 855P, *см. также* Транспозон(ы)
- Инсулин, 217P
- протеолитическое расщепление, 228, 230P
- рецептор, 1225, 1225P, 1516, 1516P, 1516T
- секреция (β -клетки), 2209, 2209P
- Инсулиноподобный фактор роста 1 (IGF-1), 1516, 1516T, 1517
- рецептор, 1516, 1516P
- Инсулиноподобный фактор роста 2 (IGF-2), импринтинг, 723–725, 725P
- Инсулятор-связывающие белки, 696–697, 697P
- Инсуляторные элементы, 696P, **696–697**, 697, 697P
- Интегра (заменитель кожи), 2260
- Интеграза, 486T
- лямбда интегразы, 495, 497P
- Интегрин(ы), 1799P, 1805T, **1794–1807**
- $\beta 1$ интегрины, 1799, 2175, 2175P
- $\beta 2$ интегрины, 1800
- $\beta 3$ интегрины, 1800
- адгезионные контакты, 1759, 11134
- активация извне, 1797
- активация изнутри, 1797
- аллостерическая регуляция, 1796–1797, 1797P
- в молочной железе, 2185
- внутриклеточная сигнализация, 1797, 1803P, **1803–1805**
- гетерофильное связывание, 1761
- группировка и прочные контакты, **1800–1802**
- двунаправленная сигнализация, 1794
- контррецепторы, 1800
- миграция клеток и, 1795–1796
- мутации и генетические заболевания, **1797–1800**
- пролиферация и выживание клеток, зависимость от прикрепления, 1802P, **1802–1803**
- проникновение бактерий и, 2311
- разнообразие функций, 1799T, 1797–1800, 1800P
- сборка фибрилл фибронектина, 1826
- связывание фибронектина, **1828**
- структура, 1795P, **1795–1797**, 1797P
- сшивка актина, 1795, 1795P
- эффекты натяжения, 1794, 1796, 1796P
- Интеллейкин-10 (IL10), 2420, 2446, 2456T
- Интеллейкин-12 (IL12), 2446P, 2448, 2449P, 2456T
- Интеллейкин-13 (IL13), 2446
- Интеллейкин-17 (IL17), 2448
- Интеллейкин-4 (IL4), 2446, 2446P, 2456, 2456T
- Интеллейкин-5 (IL5), 2446, 2456T
- Интерлейкин(ы), 2443P, 2456T, *см. также конкретные интерлейкины*
- рецепторы, 2443P
- Интерлейкин-1-конвертирующий фермент (ICE), 1717
- Интерлейкин-2 (IL2), 2443, 2443P
- рецептор, 2443P
- Интерлейкин-3 (IL3), 2234, 2234T, 2235P
- Интерфаза, 1623
- динамика микротрубочек, 1658
- стрессовые фибриллы, 1678
- хромосомы, *см.* Интерфазные хромосомы
- Интерфазные хромосомы, 319P, 321, *см. также* Клеточный цикл; Структура хромосом; Политенные хромосомы
- модификация гистонов, 364, 364P
- организация хроматина, 361P, 371, *см. также* Гетерохроматин
- петли, 359P, 358–361
- политенные, **361–364**
- хромосомы типа ламповых щеток, 358, 358, 359P, 1968
- Интерференция, 895, 896P
- Интерферон(ы)
- интерферон- α (IFN α), 2352–2354
- интерферон- β (IFN β), 2352–2355
- интерферон- γ (IFN γ)
- вирусные инфекции, влияние на, 2149P
- развитие Т-клеток, 2430
- секреция Т_{H1} клеток, **2445**, 2449P, 2456T
- цитотоксические Т-клетки, влияние на, 2445
- Интрон(ы)
- гены человека, 315P, 317, 317T
- группы I, 512, 547, 547P

- группы II, 547, 547P
- длина, 536, 541, 542P
- неоднозначность последовательности, 741
- органелл, 1323
- роль в эволюции белков, 393
- структура генов, 317
- удаление сплайсингом РНК, 530–531, **533–534**, *см. также* Сплайсинг
- — порядок, 541–542, 542P
- — сигналы сплайсинга, *см.* Сигналы сплайсинга
- факультативные, 1323
- эволюция, 534
- Интроны группы I, 512, 547, 547P
- Интроны группы II, механизм самосплайсинга, 547, 547P
- Инфекционный мононуклеоз, 2297
- Инфекционный мононуклеоз, вирус Эпштейна–Барр, 2297
- Инфекция, *см. также конкретные инфекции/организмы*
- внутриклеточные патогены, *см.* Внутриклеточные патогены
- как карциноген, **1880**
- клеточная биология, **2300–2338**
- ответ на, *см.* Защитные системы хозяина; Иммунный ответ/система
- признаки/симптомы, 2277–2278
- путь, 2300–2301
- хронические заболевания, 2297–2299
- Ион водорода (H^+ , протон)
- внутриклеточная концентрация, 918
- вода, 1273, 1273P
- градиенты, приводящие к синтезу АТФ, 157P
- движение, 1272–1273, 1283, 1283P, *см. также* Электрохимический протонный градиент; Протонные насосы
- измерение рН, 918
- кислоты, 80
- обмен, 174P
- Ион(ы), 71, *см. также конкретные ионы*
- концентрация, 918, 920P, 1005T, *см. также* Электрохимический протонный градиент
- мембранные каналы, *см.* Ионные каналы
- Ион-чувствительные индикаторы, 918, 920P
- Ионизирующее излучение, ДНК-повреждающие агенты, 460–462, *см. также* Ультрафиолетовое (УФ) излучение
- Ионные каналы, **1027–1063**, *см. также конкретные типы*
- воротный механизм, 1029, 1029P, 2189, 2189P
- конформационные изменения, 1029P
- лиганд-зависимые, *см.* Лиганд-зависимые ионные каналы
- мутации, 1049
- потенциал-зависимые, **1040–1042**
- пэтч-кламп, 1004P, 1047PP, **1045–1049**
- распространенность, 1029
- регулируемые циклическими нуклеотидами, 1515
- селективность, **1027–1030**
- семейства, 1063T
- функция, 1027, 1029
- эффективность транспорта, 1027
- Ионные каналы, регулируемые циклическими нуклеотидами, 1515
- Ионные связи, 71, 176P
- водные растворы, 176P
- длина/энергия связи, 82T
- сворачивание белков, 197P
- *ср.* ковалентные связи, 73P
- Ионообменная хроматография, 791, 794P
- матрицы, 823P
- очистка белков, 825P
- Ионотропные рецепторы, *см.* Ионные каналы
- Исключительно белковое наследование, дрожжи, 612, 612P
- Искусственные хромосомы, векторы клонирования ДНК, 834, 836P
- Исправление ошибок спаривания (mismatch-репарация)
- дезаминированные метилированные цитозины, 476–490
- конверсия генов, 482P
- коррекция неправильного спаривания, 425P, 425–428, 482P, 482–483
- направляемое цепью исправление ошибок спаривания, 416, 425P, **423–426**, *см. также* Заболевания репарации ДНК
- — дефекты и рак, 425–426, 453T, 453–454

- экзонуклеолитическая коррекция, 413, 413P
- Исправление ошибок, ДНК-полимераза, 411–413, 413PP
- Кавеолин, **1213**
- Кавеолы, 1213P, **1213**
- Кадгерин(ы), **1741–1767**, *см. также конкретные типы*
 - β -катенин и, 1518, 1755
 - Ca^{2+} -зависимая межклеточная адгезия, **1744–1745**, 1746–1748
 - гены, в направлении нейронов, 2123
 - гомофильная адгезия, 1748T, 1746–1749
 - принцип «застежки», 1748–1749, 1749P
 - расщивание тканей и, 1751–1753
 - родство, 1748
 - классические кадгерины, 1745, 1748T, 1805T
 - E-кадгерин, 1745, 1748T, 1753, 1911–1913
 - N-кадгерин, 1745, 1748T, 2123
 - P-кадгерин, 1745, 1748T
 - VE-кадгерин, 1748T, 1759
 - доменные повторы в кадгеринах, 1746
 - катениновая связь с актиновым цитоскелетом, 1755P, **1755**
 - сигнализация, 1759
 - структура, 1749P
 - неклассические кадгерины, 1745–1746, 1748T, 1805T
 - Fat белки, 1748T, 1762
 - Flamingo белок, 1746, 1748T, 1759
 - T-кадгерин, 1745–1746, 1748T
 - десмогелины, 1745, 1748T
 - десмоколлины, 1745, 1748T
 - доменные повторы в кадгеринах, 1746
 - кадгерин, 33, 1748T
 - протокадгерины, 1745, 1748T
 - сигнализация, 1759
 - нервная ткань, 1745, 1745P, 2123
 - представители семейства, 1748T
 - проникновение бактерий и, 2311
 - разнообразие, 1745–1746, 1746P, 1748T
 - распределение, 1744, 1745, 1745P
 - сигнальные функции, **1745–1746**, 1759
 - структура, 1745–1746, 1746P, 1749P
 - внутриклеточные домены, 1755
 - кадгериновый доменный мотив, 1746
 - конформационные изменения, 1748
 - формирование синапса и, 1764
 - экспрессия в процессе развития
 - компактизация эмбриона, 1745, 1745P
 - нервное развитие, 1751, 1751P, 1753P, 2123
 - расщивание клеток, **1751–1753**, 1753P, 1755P
 - селективная адгезия, 1749P, **1749–1751**, 1751P
- Казеинкиназа, 1, 1518
- Калиевые каналы (K^+ -каналы)
 - бактериальные, структура, 1034P, **1033–1036**
 - воротный механизм, 1034
 - каналы утечки, **1030**
 - потенциал-зависимые, *см. Потенциал-зависимые калиевые каналы*
 - проводимость, 1033
 - селективный фильтр, 1036P
 - *ср.* хлорный канал, 1037P
- Калиевые каналы утечки (K^+ -каналы утечки), **1030**
- Каллус, формирование в растительных клетках, 779–780, 872
- Кальмодулин, **1515**
 - Ca^{2+} /кальмодулин, 1515
 - действие на СаМ-киназу II, 1515P, **1515**
 - связывание Ca^{2+} , 1580
 - связывание с аденилилциклазой в *Bordetella*, 2303
 - структура, 217P
- Кальнексин, как белок-шаперон, 1133–1135, 1177
- Кальретикулин, функция белкового шаперона, 1133–1135
- Кальциевая волна, яйцеклетки, 1515, 1515P, **1985**
- Кальциевая сигнализация, **1515**
 - Ca^{2+} -индуцируемое высвобождение Ca^{2+} , 1515
 - IP_3 -опосредованная, 1515, 1515P, *см. также* Инозитолфосфолипиды
 - РКС и, 1515
 - в синапсах, 1515
 - волна Ca^{2+} , оплодотворение, 1515, 1515P, **1985**
 - всплески Ca^{2+} , 1515, 1515P

- вход в цитозоль, **1515**, *см. также* Кальциевые каналы
- высвобождение кальция, 1515
- кальмодулин и, **1515**, 1515P, 1580
- колебания Ca^{2+} , **1515**, 1515P
- механизмы поддержания низкой концентрации Ca^{2+} в цитозоле, 1515, 1515P
- универсальный клеточный посредник (мессенджер), **1515**
- частота колебаний, **1515**
- Кальциевые каналы, 1515
 - IP_3 -управляемые Ca^{2+} -каналы, 1515
 - риаудиновые рецепторы, 1515
- Кальциевые насосы (Ca^{2+} -АТФазы), **1017–1018**
 - автофосфорилирование, 1017
 - механизм, 1018P
 - мышечное сокращение, 1017
 - структура, 1017–1018, 1018P
- Кальций-активируемые калиевые каналы, 1060
- Кальций-чувствительные флуоресцентные красители, 1515, 1515P
- Кальций/ион кальция (Ca^{2+})
 - активация яйцеклетки, **1985**
 - внутриклеточное измерение, 918–920, 920P
 - высвобождение медиатора в синапсах, 1234, 1240, 1515
 - кадгерин-опосредованная межклеточная адгезия, **1744–1745**
 - как внутриклеточный посредник (мессенджер), **1515**
 - концентрация в цитозоле, 1017
 - проницаемость щелевых контактов, 1783–1784
 - регуляция концентрации в цитозоле, 1515
 - сигнализация, *см.* Кальциевая сигнализация
 - хранение, саркоплазматический ретикулум, 1114–1115
- Каналообразующие соединения, 1740, 1740P, 1741T, **1778–1787**, *см. также конкретные типы*
- Каналы, белки, **1005–1007**, *см. также* Ионные каналы; *конкретные типы*
 - конформационные изменения, 1007P
 - пассивный транспорт, 1007, 1009P
- Капацитация, 1978, **1982**
- Капиллярные синусы, в костном мозге, 2224
- Капилляры, 2212P, 2212–2214, *см. также* Ангиогенез
 - ответ на повреждение, 2216, 2216P
- Капозы саркома, 1881, 1881T
- Капсид(ы) (вирусные), 223, 223P, 225, 226P, 2280P, 2293, 2318
- Капсулы, механизмы устойчивости к фагоцитозу, 2350
- Карбамоилфосфатсинтаза, молекулярные туннели, 251–252, 252P
- Карбоангидраза, скорость реакции, 242P
- Карбоксилированный биотин, 133P
- Карбоксильные группы, жирные кислоты, 179P
- Карбоксипептидаза, зависимость от ионов цинка, 251
- Кардиолипид, 1329–1330, 1330P
- Кариотип, 311, *см. также* Митотические хромосомы
 - анализ, 311PP
 - мунтжак, 313P, 315P
 - человек, 311P
- Каркасная модель белка, 201P
- Каркасные белки (скэффолд-белки), 1370, **1375**, 1516, 1516P, 1759, 1764P
 - PDZ-домены, 1764
 - неструктурированные полипептидные цепи, 221
 - плотные контакты, **1771–1773**
 - формирование синапса и, **1764–1765**, 1765P
- Карликовые мутанты, **1327–1329**, 1329
- Карман специфичности, белок МНС, 2423–2424, 2425P
- Картагенера синдром, 1585
- Картинирование интронов и экзонов, 829P
- Карты (мозга), 2129P, **2128–2131**
 - ретино-текстальные, 2128P, 2129–2132
- Карты гаплотипов (хармап), 862, 864
- Карциногенез, 1853
- Карциногены, 1853
 - идентификация для предотвращения рака, **1883–1884**
 - промышленные, оценка рисков, 1884
 - метаболическая активация, 1877, 1877P
 - мутагенность, 1877, 1877P

- рак после воздействия, 1856, 1856P, 1877
- типы, 1877–1883
- Карцинома, 1850, 1890
- Каспаза/ы, **1717–1720**
 - активация, 1717, 1719, 1720P, *см. также* Прокаспаза/ы
 - домен рекрутирования каспазы, 1719
 - ингибирование, **1726–1728**, 1730
 - интерлейкин-1-конвертирующий фермент, 1717
 - каспаза-3, 1719
 - каспаза-8, 2417P
 - сигнальные пути, 1719
 - человека, 1719T
- Кассета делеции, мутагенез дрожжей, 875
- Кассета типа спаривания, 701–702, 704P
- Катаболизм, **139–162**
 - активированные носители, 125P
 - окисление органических молекул, 108, 157P
 - гликолиз, *см.* Гликолиз
 - окислительное фосфорилирование, *см.* Окислительное фосфорилирование
 - сахара, **85–90**, 139
 - цикл лимонной кислоты, *см.* Цикл лимонной кислоты
 - определение, 102, 139
 - *ср.* анаболизм, 104P
- Каталаза, 217P, 1107
- Катализ
 - автокатализ и происхождение жизни, 9P, **617**
 - в регулируемом использовании энергии клеткой, 101–137
 - катализаторы, 113, 238–239, *см. также* Фермент(ы); Рибозимы
 - при помощи РНК, *см.* Каталитическая РНК; Рибозимы
 - энергетические барьеры, 112–113
- Каталитическая РНК, *см. также* Рибозимы; Самосплайсинг РНК
 - активный сайт сплайсосомы, 541
 - происхождение жизни, 617, 618, 618P
 - саморепликация, 621, 626P
 - рибосомы, **580–582**
- Каталитические антитела, 241, 242P
- Катенин, 1180, 1525P, 1534, 1535P
 - Катастрофа, при динамической нестабильности, 1538, 1658
 - Катастрофины (факторы катастроф), 1658
 - Катенин(ы)
 - β -катенин
 - рак толстой и прямой кишки, 1917
 - связывание кадгерина, 1518, 1755
 - γ -катенин (плакоглобин), связывание кадгерина, 1755
 - p120-катенин, 1755
 - межклеточная адгезия и внутриклеточная сигнализация, 1518, 1755, 1759
 - связь классического кадгерина с актиновыми филаментами, 1755P, **1755**
 - Катион, определение, 71
 - Катион-транспортирующие АТРазаы, *см.* Кальциевый насос (Ca^{2+} -АТРаза)
 - Квантовые точки, 904, 905P
 - Кератансульфат, 1808
 - Кератин(ы), 1521, 1521P, 1521T
 - α -кератин, 218
 - Кератиновые нити, шиповатые клетки эпидермиса, 2171, 2171P
 - Кератиноциты, 1593P, 2169P, 2171
 - контроль дифференцировки в культуре, 2175, 2182
 - миграция, 1591, 1591P
 - Кетозы, моносахариды, 177P
 - Кин-узнавание, селективное удержание белков, 1123
 - Киназа MAP-киназы (МАРКК), 1516, 1516PP
 - Киназа киназы MAP-киназы (МАРККК), 1516, 1516P
 - Киназа легких цепей миозина (MLCK), *см.* MLCK (киназа легких цепей миозина)
 - Киназа фокальной адгезии (ФАК), 1517, 1803P, **1803–1805**
 - Киназа-3-гликогенсинтаза (GSK3), 1518, 1518P
 - Киназы, *см.* Протеинкиназы
 - Кинезин(ы), 813, 1556, 1556P, *см. также отдельные кинезины*
 - аксональный транспорт, 1565
 - гидролиз АТР, 1561P
 - линкерный участок, 1559
 - механохимические циклы, 1559–1560, 1561P

- митотическое веретено деления, 1587, 1653, 1656, 1661P
- процессивность, 1564
- разборка микротрубочек, 1525P
- сайт связывания микротрубочек, 1556, 1556P
- сердцевина и генерация силы, 1559
- скорость движения, 1564
- создание механической силы, 1559–1562
- структура, 1556P
- эволюционное происхождение, 1558–1559
- Кинезины, суперсемейство, *см.* Кинезин(ы); Моторные белки
- Кинетика
 - моторные белки, **1564–1565**
 - ферментативный катализ, *см.* Ферментативная кинетика
- Кинетохор, 322, 1652P, **1661–1663**
 - биполярность, 1651–1652, 1652P
 - контрольная точка сборки веретена деления, 1672
 - мейоз I, 1953–1954
 - микротрубочки
 - действующие силы, 1666P, 1668P, 1666–1670, 1673
 - митотические, 1588P, 1652, 1652P
 - напряжение, 1664, 1668
 - прикрепление, 1661, 1663, 1664P
 - структура, 1663P
- Кинетохорное волокно, 1664
- Кислород
 - атмосферный, 1337–1338, 1338P, 1338
 - восстановление цитохромоксидазой, 1281P, 1279–1282
 - необходимость для катаболизма, 151–152, 1257–1258, *см. также* Аэробный метаболизм
 - образование свободных радикалов, 1281, 1338
 - сродство к электрону, 1279–1281
 - токсичные производные, 2350
 - транспортные молекулы, 391–393
 - эволюционное значение, 1338P, **1337–1340**, 1340
- Кислород-переносящие молекулы, 391–393
- Кислоты, 80–82, 174P
 - в воде, 82P
 - измерение, *см.* PH
 - секреция, желудок, 2197
- Кислые гидролазы, лизосомы, 1196–1197
- Кислых гидролаз рецепторы, ретромеры, 1010
- Кистозный фиброз, *см.* Муковисцидоз
- Кишечник
 - гистология, 2197P, **2197–2209**
 - колонизация *Vibrio cholerae*, 2303
 - миграция клеток, 2203P, 2203–2205
 - оборот клеток, 2197–2199
 - развитие, 1998, 1998P, 2020P
 - эндокринные клетки (энтероэндокринные клетки), 2199, 2199P
- Кишечника рак, **1913–1920**, 2066P
 - генетические нарушения, 1916T, **1915–1917**, 2200
 - гетерогенность, 1922
 - дефекты репарации ошибок спаривания (mismatch-репарации), 425, 453T, **1919**
 - обнаружение и скрининг, 1915–1916
 - последовательность мутаций, 1920, 1920P
 - этапы развития, 1913–1916, 1919–1922, 2066P
- Классическая генетика, *см.* Генетика, классическая
- Кластерный анализ экспрессии генов, 884, 884P
- Кластеры интерхроматиновых гранул (спеклы), 368, 368P, 557–559, 560P
- Клатрин, структура, 1158, 1159P
- Клатриновая оболочка, 1154, 1158–1159, 1159, 1160P, *см. также* Окаймленные клатрином ямки; Окаймленные клатрином пузырьки
- Клаудины, 1771
- «Клеверный лист», структура тРНК, 565
- 2«Клеверный лист», структура тРНК, 565P
- Клетка-основательница, у *C. elegans*, 2020–2021
- Клетка-хозяин
 - вызываемые вирусами метаболические изменения, 2324–2326
 - мембранный транспорт и стратегии патогенов, 2316P, **2316–2320**
 - ответ на патогены, 2278
 - отключение транскрипции, 2324
 - проникновение патогенов, 2300, 2304–2306

- бактерии, 2311P, 2313P, 2310–2316
- вирусы, 2306, 2308P
- внутриклеточные паразиты, 2311–2316
- преодоление систем защиты, **2301–2304**
- Клетка/и, *см. также все, что начинается с клеточный/ая/ие; конкретные компоненты; конкретные типы*
- выделение, **775–798**
- методы разделения, **776, 777P, 777PP**
- смешанная суспензия, 776
- древо жизни
- бактериальные клетки, 21P, 23P, **23–24, 36, 36P**
- клетки архей, **24**
- эукариотические клетки, **21, 38–45**
- единица живой материи, 1
- поведение, *см. также* Подвижность/движение клеток
- цитоскелет, **1572–1612**
- поляризация, *см.* Полярность/поляризация
- проводник наследственной информации, 2
- происхождение жизни, 616–617
- прокариоты, разнообразие, 21P, 21–23, 23P
- самовоспроизведение путем автокатализа, 9P
- свободная энергия
- из живых организмов (органотрофные клетки), 18
- источники света (фототрофные клетки), 18
- неорганические источники энергии (литотрофные клетки), 18, 20PP
- передача информации, 10
- терминальная дифференцировка, 1693
- универсальные свойства
- АТФ как энергетическая валюта, 10–12
- ДНК как хранилище наследственной информации, 2, 3P
- РНК как посредник при передаче информации, 5, 7P
- белки как катализаторы и действующие молекулы, 7–8, 8P
- малые молекулы и фундаментальная химия, 10–12, **68–188**
- общие генные семейства, 33, 35T
- плазматическая мембрана, 12–14, 14P
- рибосомная машинерия для белкового синтеза, 8–9, 10P
- химические составляющие, **68–101**
- малые молекулы, 85
- углеродные соединения, 83–85
- Клетки зародышевой линии, 1944, *см. также* Яйцеклетка (яйцо); Гамета/ы; Сперматозоиды
- *Caenorhabditis elegans*, 2020–2021
- детерминанты, 1960, 1960P
- добавление гена, генетическая инженерия, 868–869
- Клетки памяти, приобретенный иммунитет, 2372, 2372P
- Клетки-кормилицы, 1972, 1972P
- Клетки-предшественники, 2120P, 2228–2231, *см. также* Стволовые клетки
- Клеточная адгезия, 1805T, **1739–1846**, *см. также* Молекулы клеточной адгезии (САМ); Клеточные контакты; Внеклеточный матрикс
- между клетками и матриксом, *см.* Соединения между клетками и матриксом
- межклеточная, *см.* Межклеточная адгезия
- натяжение для клеточного движения, **1596–1598**
- проникновение бактерий в клетки хозяина, 2311
- Клеточная доктрина, 892
- Клеточная культура, **775–798**, *см. также* Клеточные линии; Тканевая культура
- бактериальная, синтез вектора клонирования, 833, 834P
- вторичные культуры, 779
- зависимость от прикрепления, 1802P, 1802–1803
- исторические аспекты, 779
- клетки в культуре, 779P
- млекопитающих
- анализ клеточного цикла, 1629P, **1629**
- «бессмертные», 1629
- репликативное старение, 1629, 1699
- определения, 776–779
- первичные культуры, 779
- расслоение тканей в, 1751–1753, 1755P
- растений, 779–780, 872
- Клеточная оболочка (гликокаликс), 980, 982P
- Клеточная пластинка, 1685
- Клеточная сигнализация, 1346–1520, *см. также* Межклеточная коммуникация;

- Сигнальные молекулы/пути; Передача сигнала (сигнальная трансдукция)
- общие принципы, 1346–1514
 - ответ «все или ничего», 1514
- Клеточная смерть, *см. также конкретные типы*
- апоптотическая, *см.* Апоптоз (программируемая клеточная смерть)
 - нарушение при раке, **1863–1864**
 - нейроны, 2125–2126
 - число клеток и, 1692
- Клеточная стенка
- прокариот, 21, 2281P, 2341
 - растительная, *см.* Растительная клеточная стенка
- Клеточные взаимодействия, математическое моделирование, 50P, 50–52
- Клеточные гомогенаты, 788, 791
- Клеточные контакты, *см. также* Клеточная адгезия; Внеклеточный матрикс; *конкретные типы*
- запирающие контакты, 1740, 1740P, 1741T, **1767–1778**
 - плотные контакты, *см.* Плотные контакты
 - септированные, 1772P, 1772–1773
 - каналобразующие соединения, 1740, 1740P, 1741T, **1778–1787**
 - плазмодесмы, 1778, **1784–1785**, 1785P
 - щелевые контакты, *см.* Щелевые контакты
 - прикрепляющие контакты, 200, 1740P, 1741T, 1744T, **1741–1767**, *см. также* Кадгерин(ы), *см. также* Межклеточная адгезия; Соединения между клетками и матриксом
 - адгезионные соединения, *см.* Адгезионные соединения
 - актин-связанные, 1741T, 1742, 1744
 - десмосомы, *см.* Десмосомы
 - между клетками и матриксом, 1741T, 1744T, **1794–1807**
 - межклеточные, 1740, 1741T, 1744T, **1741–1767**
 - полудесмосомы, *см.* Полудесмосомы
 - прикрепление промежуточных филаментов, 1741T
 - расслаивание, 1751P, **1751–1753**, 1753P, 1755P
 - селективная адгезия, 1749P, **1749–1751**, 1751P
 - селектины, **1759–1761**
 - сигнализация, **179**
 - суперсемейство иммуноглобулинов, 1759, **1761–1762**
 - фокальные контакты, 1795
 - *ср.* гомофильные и гетерофильные, 1746, 1748T
 - трансмембранные белки адгезии, 1742P, 1742–1744, 1744T, *см. также* Молекулы клеточной адгезии (СAM); *конкретные типы*
 - селектины, **1759–1761**
 - суперсемейство иммуноглобулинов, 1759, **1761–1762**
 - суперсемейство интегринов, 1742, 1759, 1761, **1794–1807**
 - суперсемейство кадгеринов, **1741–1767**
 - функциональная классификация, 1740, 1741T
 - эпителиальные, 1741–1744, *см. также* Эпителий
- Клеточные линии, *см. также* Клеточные культуры
- бессмертные, 779P, 780, 782T, 1629
 - гибридные клетки, 786P, *см. также* Гибридомы
 - *ср.* первичные и вторичные, 10000
 - трансформированные, 780, 782T
 - эукариотические, 780, 782T
- Клеточные суспензии, смешанные, 776
- Клеточные экстракты (гомогенаты), 788, 791
- Клеточный сортер с возбуждением флуоресценции (FACS), 776, 777P, 1867, 1867P
- Клеточный цикл, 852P, 1622P, **1620–1708**, *см. также* Деление клеток; Рост клеток; Пролиферация клеток
- Старт (точка рестрикции), 1623, 1632, 1639, 1696
 - анализ
 - ДНК-чипы, 1637
 - анализ прохождения по циклу, **1629**
 - зародыши животных, 1626P, **1626–1627**, 1627P

- культура клеток млекопитающих, 1629Р, **1629**
- мечение BrdU, 438, 438Р, 1629, 1629Р
- мутанты дрожжей, 1624Р, **1624–1626**, 1626Р
- проточная цитометрия, 1629–1631, 1631Р
- время, 1624
- контрольные точки, *см.* Контроль клеточного цикла
- обзор, **1622–1631**
- остановка, 1632
- G₀-фаза, **1693**
- мужские гаметы, 1958
- патологические сигналы пролиферации и, **1699–1700**, 1700Р
- повреждение ДНК и, 490–505, 1696–1697, 1697Р
- раковые клетки, **1699–1700**
- системы контроль, *см.* Контроль клеточного цикла
- фазы, 319Р, 438Р, 1622Р, 1622–1623, 1623Р, *см. также* Мейоз, *см. также* Репликация ДНК
 - eIF-2 регуляция, 753–754
 - G₀ («Ж-ноль»), 753–754, **1693**
 - G₁-фаза, 438Р, 1623, 1689Р, **1689–1691**
 - G₂-фаза, 438Р, 1623
 - S-фаза (синтез ДНК), 438Р, **1640–1646**
 - M-фаза, 319Р, 438Р, 1622, 1646
 - время, 436, 438
 - действие митогенов, 1693
 - интерфаза, 319Р, 321, 1623
 - когезия сестринских хроматид, 1645–1646
 - мейотическая, 1674, 1946
 - меченые клетки, 1629Р
 - митоз, *см.* Митоз
 - репликация ДНК, 436, 438, **1640–1643**
 - синтез белков хроматина, 1650
 - синтез гистонов, 445–446
 - удвоение хромосом, 1622, 1640, 1642Р, **1643–1645**
 - универсальные свойства, 1620
 - цитокинез, *см.* Цитокинез
- хромосомные изменения, 319Р, 321Р, 319–322
- ядерные изменения, 319Р, 321Р, 319–322
- Клеточных включений болезнь (i-клеточная болезнь), 1205–1206
- Клон геномной ДНК, 836
- клонирование при помощи ПЦР, 840Р, **839–841**, 841Р
- Клональная делеция, 2375, 2375Р, *см. также* Иммунологическая толерантность
- Клональная инактивация, 2375, 2375Р
- Клональная селекция, теория, приобретенный иммунитет, 2224Р, **2368**
- Клональная толерантность, 2375, 2375Р, *см. также* Иммунологическая толерантность
- Клональная экспансия, 2372
- Клонирование, 783–785
 - векторы (ДНК), *см.* Клонирование ДНК
 - клонирование ДНК, *см.* Клонирование ДНК
 - репродуктивное, *см.* Репродуктивное клонирование
 - терапевтическое, 783Р, 785
- Клонирование ДНК, 820, **833–834**, *см. также* кДНК; Библиотеки ДНК
 - векторы клонирования, **540–541**, 834РР, 836Р
 - лигирование, 833, 834Р
 - обратная генетика, 884
 - синтез геномных библиотек, 833–834, 836Р
 - фрагменты рестрикции, 833
- Клонирование генов, 836, *см. также* Клонирование ДНК
 - метод «дробовика», 848
 - при помощи ПЦР, 840Р, **839–841**
- Клубочки обонятельной луковицы, 2188
- Ко-иммунопреципитация, 705, 807
- Коаксиальное наложение, структура РНК, 620Р
- Коактиватор(ы), 685, 688Р
- Ковалентная модификация белков, 283Т, **283–285**, *см. также* Посттрансляционная модификация; *конкретные типы*
- Ковалентные связи, 71, 73–77, 77, 78Р, 169Р, *см. также конкретные типы*
 - геометрия, 75, 77Р
 - диполи, постоянные, 77
 - длина связи, 73, 82Т
 - сила связи, 73–75, 82Т
 - *ср.* ионные связи, 73Р

- фосфат
- фосфоангидридные связи, 95, 146P
- фосфодиэфир, 95–96, 146P
- энергия связей, 146P
- Когезин(ы), **1645–1646**, 1670, 1946
- N-концевая деградация, 608
- структура, 1645P
- Код-считывающий белок («читатель» кода), 344P, 344–346
- Кодоны, 8, 563, 563P, 565P, *см. также* Анти-кодона
- избыточность, 376–378
- инициаторный кодон, 563P, 584, **754–757**
- кодон CUG *Candida*, 589
- митохондриальный геном, 1321–1322
- раскаченные (wobble), 566, 566P
- синонимы, 378
- стоп-кодона, 563P, 586
- Кожа
- как барьер, 2168–2169
- млекопитающие, 2169P
- рак, 453T, 1878
- репликативное старение, теломерные повторы, 449
- строение, 2169, 2169P
- функция, 2168
- Кожные сосочки, 2175P
- Коилин, ядерная локализация, 560P
- Кокейна синдром, 460
- Кокки, 2281P
- Коклюш, 2303
- Коклюшный токсин, 1514, 2303
- Колбочки (фоторецепторы колбочек), 2191, 2191P
- Колебания
- циркадные, *см.* Циркадные часы
- экспрессии генов при сомитогенезе, 2097P, 2096–2099, 2099P, 2099
- Количественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), 880P, 880–882
- Коллаген(ы), 1739, **1815–1818**, 1818T, 2244
- ассоциированные с фибриллами, 1817, **1820–1822**, 1822P
- *ср.* коллагеновые фибриллы, 1821–1822
- в кости, 2247
- гены, 1815–1817
- мутации, 1820
- эволюция, 1817–1818
- деградация, 1829
- коллагеновые фибриллы, 1818T, **1815–1822**
- *ср.* ассоциированные с фибриллами, 1821–1822
- предел прочности на разрыв, 1820–1822
- синтез, 1818
- коллагенные волокна, 1820, 1821P
- про- α -цепи, 1818
- проколлаген, 1818, **1820**
- пропептиды, 1818
- структура, 217P, 220P, 1815, 1817P
- волокна, 1817, 1817P, 1820, 1820P, 1822, 1822P
- посттрансляционная модификация, **1818**, 1820P
- фибриллярный белок, 220
- тип I, 1817, 1818T, 1820
- тип II, 1818T, 1820, 2247
- тип III, 1818T, 1820
- тип IV, 1788, **1789–1791**, 1791P, 1792, 1817, 1818P
- тип IX, 1817, 1822, 1822P
- тип V, 1818T
- тип VII, 1817, 1818T
- тип XI, 1818T
- тип XII, 1817, 1822
- тип XVII, 1817, 1818T
- тип XVIII, 1788, 1817, 1818T
- Коллагеназы, 1829
- Коллоидное золото, электронная микроскопия, 933
- Колхицин (кольцемид), 1521, 1521T, 1565
- Кольца Бальбиани, экспорт мРНК, 551, 551P
- Кольцевой комплекс γ -тубулина (γ -TuRC), 1522, 1522P, 1524P, 1653, 1656
- Комары, передача Plasmodium, 2288, 2300–2301
- Комбинаторная регуляция, микроРНК (miРНК), 762–764
- Комбинаторный контроль, 696
- *Eve* ген *Drosophila*, 691P, 690–693
- гетеродимеризация, **652–654**, 654P, 654PP
- детерминация клеток, 717–719
- дифференцировка клеток, 715–717, 717P
- образование комплексов, 688, 736PP

- объединение сигналов на промоторе, 691–693, 693P
- Комбинационное разнообразие, цепи антигенов, 2399
- Коммисуральные аксоны, 2123, 2123P
- Коммуникационные соединения, 1740, 1740P, 1741T, *см. также конкретные типы*
- Компактизация, 2108, 2108P
- Компактная костная ткань, 2249P
- Компартмент(ы), 2066P, 2066–2070
 - внутриклеточная, *см.* Внутриклеточная компартментализация
 - имагинального диска, 2066, **2067–2069**
 - компартментализация клетки, **1067–1082**
- Компенсация доз, 730, 732–734, 734P
- Комплекс инициации транскрипции, 523–525
- Комплекс узнавания точки начала репликации (ORC), 442, 444, 444, 445P, 1642
- Комплексы соединения экзона (EJC), нонсенс-опосредованный распад мРНК, 593
- Комплемент-связывающий рецепторный комплекс, 2451
- Комплементарная ДНК, *см.* кДНК
- Комплементация, 814P
- Конвергентное растяжение, **2091**, 2093P
- Конверсия генов, 480–482
 - в результате исправления ошибок спаривания, 482P
 - при потере генов-супрессоров опухолей, 1893P
 - структуры Холлидея, 476, 480–482
- Конденсация хромосом, 371, 373P, 1651P, *см. также* Митотические хромосомы
 - гидролиз АТФ, 371
 - инактивация X-хромосомы, *см.* X-инактивация
 - конденсация хроматина, 1645
 - конденсины, *см.* Конденсин(ы)
 - различия в течение клеточного цикла, 319P, 319–321
 - роль M-Cdk, 1646
 - упаковка хроматина, 371, 373P
- Конденсация, реакция (полимеризация макромолекул), 134P, **133–137**
 - сахаров, 86, 88P
 - Конденсин(ы), 371, 373P, 375P, **1651**
- Конкуренция
 - между аксонами за синаптическую территорию, 2131–2132, 2132P
 - половое размножение и, **1944–1946**, 1946P
- Коннексин-26, 1783
- Коннексины, **1779–1783**
- Коннексоны, 1781P, **1779–1783**
- Консенсусные последовательности
 - промоторные элементы, 519P, 519–520
 - сигналы полиаденилирования, 548, 548P
 - сигналы сплайсинга, 536, 536P
 - точки начала транскрипции РНК-полимеразой, 525P
- Консервативная сайт-специфическая рекомбинация, 483, 495
 - механизм геной регуляции, **497–498**
 - обратимая перестройка ДНК, 495P, **495**, 497P
 - трансгенные применения, 497–498, 498P
- Консервативная синтения, 318, 319P
- Консерватизм, эволюционный, *см.* Эволюционный консерватизм
- Константа равновесия (K), 237–239
 - связь с изменением свободной энергии, 119, 121T, 237, 238, 239P
- Константа сродства (K_a), 238P
- Константа сродства (аффинности) (K_a), 238P
 - связывание антигена и антитела, **2391**
- Константный домен, тяжелая цепь Ig, 2393P, 2395P
- Конститутивный секреторный путь, **1228**, 1229P, *см. также* Экзоцитоз
- Контакт-зависимая сигнализация, 1350, 1350P, *см. также* Эфрин(ы); Notch рецепторный белок
- Контактное ингибирование, 1703, 1703P, 1888, 1890P
- Контактное наведение (направление), 1751, 2122–2123
- Контролирующая область гена, 674P, 677, 679P, *см. также* Белки-регуляторы генов
 - LCR, 694P, **693–696**
 - инсуляторы, 696P, 697
 - промоторы, *см.* Промоторные элементы
 - регуляторные модули
 - у *Drosophila* (ген *Eve*), 690, 691P

- у млекопитающих, 693Р, 694Р, 696Р, 693–697
- энхансеры, 674Р
- Контроль клеточного цикла, 267–269, 1639Р, **1631–1640**
- анализ
- важность, 1620
- зародыши животных, 1626Р, **1626–1627**, 1627Р
- культура клеток млекопитающих, 1629Р, **1629**
- мутанты дрожжей, 1624Р, **1624–1626**, 1626Р
- внутриклеточный запуск событий клеточного цикла, репликация ДНК, 1642Р, **1640–1643**
- как таймер/часы, 1631, 1632Р
- контрольные точки, 780, 1632
- G₂/М контрольная точка, 1632, 1633, 1639, 1696
- Старт (точка рестрикции), 1623, 1632, 1639, 1696
- дефекты, делающие раковые клетки уязвимыми, 1864–1866
- контрольная точка сборки веретена деления, 1672Р, **1672**
- мейотические, 1958
- переход от метафазы к анафазе, 1632, 1639, 1646
- повреждение ДНК, 490, **1696–1699**
- молекулярные/биохимические переключатели, 1632, 1637–1639, 1651
- обнуление, 1643
- рак и, 1864–1866, 1902, 1904Р
- регуляторные белки, 1639Т, *см. также конкретные белки*
- Cdk, *см. Циклин-зависимые киназы (Cdk)*
- E2F белки, 1693–1696
- p53 и, 1696
- Rb белки, 1695Р, 1695–1696
- ингибиторное фосфорилирование, 1635–1636
- убиквитинлигазы, *см. Убиквитинлигазы*
- циклины, *см. Циклин(ы)*
- сходства у эукариот, 1624
- транскрипционная регуляция, **1637**, 1695, 1695Р
- функции, 1631–1632
- циклический протеолиз, **1636**, 1637Р, 1639Т
- APC/C, *см. Анафаза-стимулирующий комплекс (APC/C)*
- SCF ферментный комплекс, 1624, 1636
- Контрольные точки клеточного цикла, *см. Контроль клеточного цикла*
- Конусы роста, нейронные, 1609, 1610Р, 2120Р, **2120–2125**, 2214Р
- изменение чувствительности, **2125**
- коллапс, 1516Р
- наведение развивающегося неврита, **2122–2125**
- Конфокальная микроскопия, 910Р, **908–911**, 911Р
- Конфокальный микроскоп, 910Р
- Конформационные изменения
- аллостерическая регуляция, *см. Аллостерическая регуляция*
- интегрин, **1795–1797**, 1797Р
- ионные каналы, 1029Р
- кадгерин, 1748
- моторные белки, 1559–1562
- отрицательная обратная связь (ингибирование по типу обратной связи), 258, 260Р
- прионный белок (PrP), 582Р, 612
- рибозимы, 621, 624Р
- триптофановый репрессор, 667–668
- фактор элонгации EF-Tu, 273–275, 275Р, 578
- Концевая репликация, 448
- Концентрационный градиент, 1007
- Кооперативность (взаимодействие белков)
- аллостерические переходы, 261Р, 261–263, 263, 264Р, *см. также Аллостерическая регуляция*
- гемоглобин, 391, 391Р
- репликационная вилка, 418, 419Р, 423
- Кора головного мозга, 2120Р
- гомункул, 2128
- нейронная миграция, 2129Р
- соматосенсорная область, 2129Р
- Корень
- апикальная меристема, 1785, 2143Р
- в развитии растений, 2142, 2142Р
- кончик, 2150Р
- структура, 2146–2147

- Корепрессор(ы), 685, 688Р, 705Р, **704–707**,
см. также Кооперативность (взаимодействие белков)
- Корецептор, Т-клетка, 2427Т, 2427–2428, 2428Р
- Коричневый жир, 1288
- Кормилицы, *см.* Клетки-кормилицы
- Кормление грудью (лактация), 2183Р, 2183–2185
- Корневой чехлик, 2150Р
- Корневые волосы, 2147Р, 2150Р
- Коровье бешенство, *см.* Губчатая энцефалопатия крупного рогатого скота
- Коровья оспа, вирус, 2320Р, 2323Р, 2324
 — опосредованное микротрубочками движение, 2323–2324
- Коронавирусы, 2292Р
- Коррали, разделение мембраны, 996, 998Р
- Коррекция ДНК-полимеразой, 411–413, 413РР, *см. также* Исправление ошибок спаривания (mismatch-репарация)
- Кортиев орган, 2188, 2189Р
- Кортизол, 713, 1363, 1363Р
 — регуляция экспрессии генов, 713
 — рецептор, 1365Р
- Кортикальная реакция, 1985, 1986Р, **1986**
- Кортикотропин (АКТГ), 1233Р
- Косоглазие, 2135
- Кости, **2247–2255**
 — восстановление, 2255
 — замещение хряща, 2249–2250, 2250Р
 — каналцы, 2249, 2249Р
 — клетки, 2244, 2249Р, *см. также* Остеобласт(ы); Остеокласт(ы)
 — лакуны, 2249
 — матрикс
 — — как источник сигнальных белков, 2250
 — — неминерализованный (остеоидный), 2247–2249, 2249Р
 — — секреция остеокластами, 2247–2249
 — — эрозия остеокластами, 2250
 — перестройка, 2252–2253, 2253Р
 — — деградация внеклеточного матрикса, 1828
 — — ответ на давление, 2255
 — развитие, 2249–2252
 — — хрящевая модель, 2249–2250, 2250Р
 — синтез внеклеточного матрикса, 1808
 — состав, 2247–2249
 — структура, 2249Р
 — суставы, 2250–2252
 — трансформация фибробластов, 2245, 2247–2250
 — трубчатые, развитие, 2249–2250, 2250Р
- Костимулирующие сигналы
 — активация лимфоцитов, 2375
 — антиген-презентирующие клетки, 2365Р, 2413, 2415Р, 2446Р, *см. также* В7 белки; CD40 лиганд
 — дендритные клетки, 2413
- Костные морфогенетические белки (BMP), 2042, 2205
- Костный мозг
 — апоптоз, 1716
 — влияние рентгеновского излучения, 2226–2228, 2228Р
 — гистология, 2226Р, 2223–2236
 — капиллярные синусы, 2224
 — образование клеток крови, 2223Р, **2223–2228**, 2364Р, *см. также* Кроветворение (гемопоз)
 — — регуляция, 2232
 — переливание, 2228, 2228Р
 — стромальные клетки, роль, 2231–2232
 — трансплантация (пересадка), 2228, 2228Р
- Кофермент Q, 1277, 1279Р, 1283
- Кофермент А (CoA), 131Р, 131–133, 133Т, 182Р, *см. также* AcetylCoA (ацетилкофермент А)
- Коферменты, 251, 251Т, *см. также* конкретные типы
- Кофилин (фактор деполимеризации актина), 1524Р, 1535, 1537Р
 — гидролиз нуклеотидов, 1537
 — ламеллоподии, 1593Р
- Коэффициент седиментации, 789, 805
- «Кража» кэпов, 2324
- Красные клетки крови, *см.* Эритроцит(ы)
- Крахмал
 — биосинтез, 1299
 — гранулы
 — — амилопласты, 1292, 1292Р
 — — хлоропласты, 148Р, 149, 1292, 1293Р
 — синтез, 149
 — структура, 148Р

- Креатинфосфокиназа, специализация мио-
ластов, 715
- Кребса цикл, *см.* Цикл лимонной кислоты
- Крейцфельда-Якоба болезнь (CDJ), 611–612
- Крик, Фрэнсис Х. К., 300
- Криозлектронная микроскопия, 939
- Криптины, 2199
- Криптохром, 1519
- Крипты тонкого кишечника, 2197, 2197P,
2205P
- Кристаллизация, белки, 814
- Кристаллография
— рентгеновская, *см.* Рентгеновская кристал-
лография
— электронная, 941–942
- Критический период, 2135
- Кровеносные сосуды, 2211P, 2212P, **2211–
2219**, *см. также конкретные типы*
— механизм роста, 2216
— образование и рост, *см.* Ангиогенез
— развитие, 2212
— эндотелиальные клетки, *см.* Эндотелиаль-
ные клетки
- Кроветворение (гемопоз), **2219–2228**, *см.*
также Эритропоз; Кроветворные ство-
ловые клетки
— клеточная смерть при, 2236
— коммитирование, 2228–2231, *см. так-
же* Транзиторные амплифицирующиеся
клетки
— контроль, 2224
— — колониестимулирующими факторами,
2232–2235
— — множественные точки контроля, 2235P
— — посредством апоптоза, 2236
— костный мозг, 2223–2238
— от полипотентной стволовой клетки, 2228
— схема клеточной линии, 2229P
- Кроветворные клетки, 2235–2236
- Кроветворные стволовые клетки, **2219–2238**
— в костном мозге, 2224–2236
— зависимость от контакта со стромальной
клеткой, 2231P, 2231–2232
— коммитирование, 2228–2231
— маркеры клеточной поверхности, 2228
— потенциал генной терапии, 2228
— скорость деления, 2231
- Кроветворные ткани, происхождение лимфо-
цитов, 2367
- Кровяные клетки, 2221P, 2222P, 2221–2223,
2223T, *см. также* отдельные типы
— образование, *см.* Кроветворение (гемопо-
эз)
— функции, 2223T
«Кросс-бета» филаменты, 611, 611P
- Кроссинговер, *см.* Гомологичная рекомбина-
ция (кроссинговер)
- Кросспрезентация, презентация антигена,
2433
- Круглые черви, 20P
- Крыло
— имагинальный диск, 2071P
— кромка, 1840, 2066
— почка, 2070P
- Ксенотрансплантат, реакция на трансплан-
тат, 2420
- Ксеродерма, пигментная, 453T, 1853
- Куколка, *Drosophila*, 2031
- Кукуруза, 24P, 486T, 2155–2157, 2157P
- Культура, *см.* Клеточная культура
- Кумасси (бриллиантовый синий), окрашива-
ние белков, 798, 800P
- Купфера клетки, 2208P
- Курица, зародыш
— нервное развитие, 2116P
— развитие конечностей, 2005–2007, 2007P,
2070, *см. также* Почки конечностей (по-
звоночные)
— сомиты, 2097P
- Куру, 2297P
- Кэп-связывающий комплекс (СВС), 531–533
- Кэпирование активных филаментов, *см.*
Актин/актиновые филаменты
- Кэпирующий белок, актиновые филаменты,
1538
- ЛПС, *см.* Липополисахарид
- Лазерная захватывающая микродиссекция,
776, 777P
- Лазерный (оптический) пинцет, 922, 922P
- Лайма болезнь, 2299
- Лактат, синтез, 142, *см. также* Гликолиз
- Лактозопермеаза, 1013, 1014P
- Ламеллоподия, 1591
— актиновые гели, 1546
— клеточная адгезия, 1596

- конусы роста, 1596P, 1610
- кофилин в, 1593P
- механизм движения, 1591–1593
- нуклеация актиновых филаментов, 1527
- ползание клеток, 1546, 1590P
- раффлы на ведущем конце, 1596P, 1598
- *ср.* организация митотического веретена деления, 1594
- формирование сети комплексом ARP, 1593, 1593P
- Ламинин(ы)
 - базальная мембрана, **1788–1789**
 - изоформы, 1789
 - ламинин-1 (классический ламинин), 1788–1789
 - мутации, 1791
 - нервно-мышечные соединения, 1792
 - роль в наведении нейронов, 2123
 - связывание коллагена, 1789–1791, 1791P
 - структура, 1789P
 - эпителиальная апикально-базальная полярность, 1773P
- «Ламповые щетки», хромосомы, 358P, **358**, 359P, 1968
- Лангерганса клетки, *см.* Дендритные клетки
- Лассо структура, сплайсинг пре-мРНК, 533, 534P, 538P
- Латентность, вирус Эпштейна–Барр, 2297
- Латентные белки-регуляторы генов
 - β -катенин, сигнализация Wnt, **1518**, 1518P
 - NF κ B, **1518**, 1518P, 2346
 - Notch, **1518**
 - протеолиз, **1518**
- Латеральная диффузия (мембранных белков), 990, 994P
- Латеральное ингибирование
 - Delta-Notch сигнализация, 1518, 1518P
 - Wnt-Notch сигнализация, 2202P, 2202–2203
 - развитие сенсорного волоска *Drosophila*, 2073–2074
- Латрункулин, 1521, 1521T
- Левенгук, Антони ван, 775, 775P
- Лево-правая асимметрия, развитие, **2104–2105**
- Легионеров болезнь, 2311
- Легкие, **2194–2197**
 - Легкие (L) цепи (антител), 2382–2384, 2385P, 2388, 2390T, 2391P
 - переменные области, **2391–2393**, 2395P
 - константные домены, **2391–2393**, 2395P
 - повторяющиеся домены, **2391–2393**, 2395P
 - происхождение разнообразия, 2398–2404
- Лейдига клетки, развитие, 1964
- Лейкоз
 - В-клеточный лимфоцитарный лейкоз, происхождение, 1868
 - дефекты репарации ДНК, 453P
 - хронический миелоидный, *см.* Хронический миелоидный лейкоз
- Лейкопласты, 1292
- Лейкоциты, 2221, 2223T
 - воспалительная реакция, 2223–2224, 2224P
 - интегрин, 1800
 - миграция от капилляров, 2223–2224, 2224P
 - структура, 2222P
 - типы, **2221–2223**
 - улавливание эндотелиальными клетками, 2223, 2224P
- Лейцин, структура, 195P
- Лейцин-обогащенные повторы, белки с (LRR), 1518P, **1518**
- «Лейциновая молния», белки, **651**, 652P, 654P
- Лейшманиоз, 2278
- Лекарственная устойчивость, **2331–2338**
- Лектин(ы), 1759
 - активация комплемента, 2344
 - взаимодействие с гликокаликсом, 980
 - маннансвязывающий, 2344
 - *транс*-сеть Гольджи, 1240
- Лектиновый путь активации комплемента, 2344
- Ленточная модель белка, 200P, 206P
- Лепроматозная проказа (лепра), 2446–2448
- Лептин, 2257
 - нехватка, 2259P
 - секреция жировыми клетками, 2257–2259
 - сравнение последовательностей генов, 379P, 381P
 - функция/действие, 2257–2259, 2259P
- Лептотена, 1950

- Летальные мутации, 814Р
 Летальный токсин, 2287
 Лигазный фолд, 624Р
 Лиганд(ы), *см. также* Субстрат(ы), связывающие ферментов
 — открывание ионных каналов, *см.* Ионные каналы
 — сайты связывания белков, 231
 Лиганд-зависимые ионные каналы
 — механически управляемые, 2189, 2189Р
 — нейромедиатор-зависимые, *см.* Медиатор-зависимые ионные каналы
 — рецепторы, сопряженные с ионными каналами, 1367, 1368Р
 Лигирование, *см. также* ДНК-лигаза
 — клонирование ДНК, 833, 834Р
 — синтез отстающей цепи (репликация ДНК), 416
 Лигнин, растительная клеточная стенка, 1831, 1832, 1837Т
 Лизин, 194Р, 1818, 1820Р
 Лизозим, *см. также* Лизосома/ы
 — дисульфидные связи, 223
 — катализ, **242**, 247Р, **247–249**, 249Р
 — структура, 217Р, 247Р
 — функции, 245–247
 Лизомальная гидролаза, 1205, 1206Р
 Лизосома/ы, 1197Р, 1196–1208, *см. также* Лизозим
 — вакуоли дрожжей, **1199–1200**
 — внутриклеточное переваривание, **1196–1197**, 1204Р
 — импорт вещества, 1200, 1202, 1202Р, 1204РР
 — кислые гидролазы, 1196–1197
 — меланоциты, 1206
 — мембраны, 1069Т
 — объем, 1069Т
 — проникновение *Trypanosoma cruzi*, 2316
 — протонный насос, 1197, 1197Р
 — пути к деградации, 1204Р
 — распределение, 1197–1199
 — растительные вакуоли, **1199–1200**
 — слияние с фагосомами, 2348–2350
 — созревание, 1199Р
 — структура, 1197Р
 — транспорт
 — — из аппарата Гольджи, **1196–1204**, 1205Р, 1208
 — — из эндосом, 1214–1216, 1220Р, 1222Р
 — функция, 1068, 1196–1197
 — экзоцитоз, 1206
 Лизосомальная секреция, 1206
 Лизосомальные болезни накопления, **1205–1206**
 Лимонная кислота (цитрат), 154, 154Р, 187Р
 Лимфатический сосуд, функция, 2212
 Лимфатический узел, 2379, 2381Р
 Лимфоидные органы, **2363**, 2364Р, *см. также* Костный мозг; Лимфатические узлы; Тимус
 — периферический, 2367, 2377, 2377Р, 2384Р
 — *ср.* центральный и периферический, 2367
 — центральный, 2364Р, 2367, 2367Р
 Лимфома
 — Беркитта, *см.* Беркитта лимфома
 — дефекты репарации ДНК, 453Т
 — неходжкинская, метастазы, 1850Р
 Лимфоцит(ы), 2222–2223, 2223Т, *см. также* В-клетки; Т-клетки
 — активация, костимулирующий сигнал, 2375
 — клетки памяти, 2372
 — кроветворная стволовая клетка, коммитирование к лимфоидному пути, 2228–2229
 — наивные клетки, 2372
 — общие принципы, **2363–2381**
 — — зависимость от врожденной иммунной системы, **2364–2365**
 — — клональная селекция, 2368
 — — приобретенный иммунитет, 2363–2364
 — — развитие В-клеток, 2367–2368
 — — развитие Т-клеток, 2367–2368
 — — толерантность, 2375
 — происхождение, 2364Р, 2367
 — рециркуляция, 2377Р, **2377–2381**
 — хоуминг-рецепторы, 2379
 — цитотоксические, апоптоз, 1720
 — эффекторные клетки, 2372
 Лимфоцитарный хориоменингит, вирус, 2292Р
 Линзы, *см. также* Световые волны
 — световой микроскоп, 895–896, 896Р
 — электронный микроскоп, 930
 Линкерная ДНК, 324

- Линкерный участок (кинезина), 1559
 Липид(ы), 90, 180P, *см. также* Жир(ы); *конкретные типы*
 — агрегаты, 180P
 — капли, 148P, 152P, 180P, 964–965, 965P
 — клеточные мембраны, 953–969, *см. также* Липидный бислой; Мембрана/ы
 — синтез, 1329
 — формирование бислоя, *см.* Липидный бислой
 Липидкиназы, 967, *см. также конкретные киназы*
 Липидные рафты, 964, 964P, 1239, 1239P
 — сборка, 1139P, 1139–1140
 — формирование кавеол, 1213
 Липидные якоря, мембранные белки, 971
 Липидный бислой, 12, 954P, 964P, **953–969**
 — асимметрия, 965P, **965–967**
 — барьерная функция, 1004
 — диффузия, 959, 1005
 — относительная проницаемость, 1005P, 1007P
 — подвижность, 959, 961P
 — происхождение, 623–624, 626P
 — проницаемость, 963, 972, **1005**
 — самопроизвольное образование, **956–957**
 — сборка, 956–957, 959, 1141P, **1140–1143**, *см. также* Фосфолипид(ы)
 — связывание мембранных белков, *см.* Мембранные белки
 — сигнализация, 965
 — слияние, белки SNARE, 1171P, 1173
 — состав, **959–963**, 963P
 — структура, 956P, 957–959
 — текучесть, 957P, **957–963**
 — формирование доменов, **963–964**
 — черные мембраны, 959
 Липополисахарид (ЛПС, LPS), 2281P
 — активация макрофагов, 2346P
 — иммуностимуляция, 2341
 — структура, 2341P
 Липопротеины низкой плотности (LDL), 1214P, 1214–1217
 — рецепторы, 1214P, 1214–1219
 Липосома, 957–959, 959P, 964P
 — растворимость мембранных белков, 983
 Литический путь/лизогенный путь, фаг лямбда, 705, 705P
 Литотрофы, 18, 23, 23P
 Лихорадка (повышенная температура), 2278, 2352
 Личинка (*Drosophila*), 2031, 2052P
 — имагинальные диски, 2061, 2063P
 — стадия вытянутой зародышевой полоски, 2033P
 Личиночная стадия, 2031
 Ложноножки (псевдоподии), 1591
 Локус-контролирующая область, **693–696**, 696, 696P
 Локусы с варьирующимся числом tandem-ных повторов (VNTR), 843P
 Лу Герига болезнь, 1521
 Люминесцентные молекулы, 918–920
 Лютеинизирующий гормон (ЛГ), 1514T, 1975
 Лягушка, 634, 636P, *см. также Xenopus laevis*
 Лямбда бактериофаг, *см.* Бактериофаг лямбда
 Лямбда репрессор, 704–705, 705P
 — белок-регулятор гена, 640
 — мотив спираль-поворот-спираль, 646P
 — синтетическая биология, 710P
 — узнавание последовательности ДНК, 644T
 МСГ, образование, 1233P
 Магний, долговременная потенциация, 1061
 Магнитный пинцет, 813
 Мазок шейки матки, 1859
 Макромолекулы, *см. также конкретные типы*
 — биосинтез, 98, 134P
 — ориентация, 136, 137P
 — энергетические затраты, 133–137
 — взаимодействия, *см.* Макромолекулярные взаимодействия
 — клеточная химия, 96–98
 — белковые субъединицы, 223
 — изобилие, 96P
 — состав, 514–516
 — *ср.* клетки млекопитающих и бактерий, 98T
 — определение формы, 98–99, 99P
 — полимеризация, 86, 133–137
 — сборка, **223–230**
 — субъединицы, 96P, 98P, **223–230**
 — фракционирование клеток, **788–789**

- Макромолекулярные взаимодействия, *см. также конкретные методы*
- взаимодействия белков с ДНК, *см. Белок-ДНК взаимодействия*
 - взаимодействия белков с лигандами, *см. Белок-лиганд взаимодействия*
 - взаимодействия молекул ДНК, 496Р, *см. также Гибридизация ДНК*
 - взаимодействия фермента с субстратом, *см. Фермент-субстратные взаимодействия*
 - гидрофобные взаимодействия, 176Р
 - нековалентные взаимодействия, 85Р, 235, 238Р
- Макропиносомы, 2311
- Макрофаг(и), *см. также Антиген-презентирующие клетки*
- NADPH-оксидаза, 2350
 - Toll-подобные рецепторы (TLR), 2348
 - ВИЧ-инфекция, 2428
 - активация, **2448–2449**
 - Т-хелперы (Т_H), 2420, 2446Р, 2449Р
 - липополисахарид, 2346Р
 - рекрутирование клеток, 2352
 - апоптоз, 1716
 - влияние NO, 1361
 - время жизни и оборот, 2234
 - дыхательные пути, 2194–2197
 - клеточная линия и образование, 2229Р
 - легкие, 2194–2197
 - пенистые клетки, 2299
 - ползание клеток, 1590
 - проказа, 2446–2448
 - рецепторы, 2348–2350
 - секреция интерлейкина и чувствительность, 2456Т
 - туберкулез, 2310–2311, 2446–2448
 - фагоцитоз, 1208, 1209Р, 2348–2350
 - *Mycobacterium tuberculosis*, 2310–2311
 - *Salmonella enterica*, 2351
 - активируемый антителами, 2387, 2387Р, 2390Т
 - функция, 2222
- Макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), 2234Т
- роль в производстве макрофагов, 2234–2235
- Малат, 187, 188Р
- Малатдегидрогеназа, 188Р
- Малая бороздка, ДНК-связывающие белки, 651, 652Р
- Малая интерферирующая РНК (siРНК), 516
- Малые молекулы
- органические, *см. Органические молекулы (малые, клеточные)*
 - трансмембранный транспорт, 1004
 - универсальность, 10–12
- Малые молекулы-ингибиторы, 813, 813Р
- Малые ядерные РНК, *см. SnРНК*
- Малые ядерные рибонуклеопротеиды, *см. SnРНП*
- Малые ядрышковые РНК, *см. SnoРНК*
- Малярия, 2288–2290, 2290Р, *см. также Plasmodium falciparum*
- распространение, 2300–2301
- Маннансвязывающие лектины, 2344
- Маннозо-6-фосфат (М6Р)
- лизомальный импорт, 1202–1204
 - лизосомальная сортировка, **1205**, 1206Р
 - рецепторы, 1159, 1204
 - структура, 1204Р
- Маркерные гены, *см. Репортерные гены*
- Маркеры последовательностей, генетическая инженерия, 875
- Марфана синдром, 1824–1825
- Масс-спектрометрия
- MALDI-TOF, 801–803
 - белковый анализ, 803Р, **801–804**
 - объединение с жидкостной хроматографией, 805
 - принципы, 803Р
 - состав мембран, 963
 - тандемная, 801–804
 - точность, 801
- Масштаб, 893, 893Р
- Математическое моделирование, 50Р, 50–52
- Матричная РНК (мРНК), 5, 508, 512, *см. также Транскрипция; Трансляция*
- взаимодействие с рибосомами, *см. мРНК-рибосомы, взаимодействие*
 - взаимодействие с транспортной РНК, 273–275
 - деградация, 747
 - РНК-интерференция, 764
 - нонсенс-опосредованный распад, *см. Нонсенс-опосредованный распад мРНК*

- пути, 759, 759P
- регуляция экспрессии генов, 582P, 638, 759–760
- «кража» экзона, 2324
- локализация вблизи цитоскелета, 1567–1569
- полиаденилирование, *см.* Полиаденилирование (3'-конец мРНК)
- прокариотическая, 531P, 584, 586P, 753
- сигналы трансляции, **582–584**, 589
- сплайсинг, *см.* Сплайсинг
- стабильность, **759–760**
- функция, 516T
- эукариотическая, 531P, 751–753, *см. также* Полиаденилирование (3'-конец мРНК)
- 5'-кэпы, *см.* 5'-Кэпирование эукариотической мРНК
- клоны кДНК, 837P, 839
- локализация, 749–751, 751P
- нетранслируемые области, 751, 753
- процессинг, *см.* Процессинг РНК (эукариоты)
- редактирование, 744–747
- сайт начала трансляции, 582–584, 584P
- сплайсинг, *см.* Сплайсинг
- уровень экспрессии, различные клетки человека, 635
- участок внутренней посадки рибосомы (IRES), 757P, **757**, 2324
- формирование 3'-конца, 548P, 548–550, **743–744**
- ядерный экспорт, *см.* Ядерно-цитоплазматический транспорт
- Матричная полимеризация, 3P, 3–5, *см. также* Репликация ДНК; Транскрипция
- ДНК, 307, 307, 308P, 408, 408–410P
- передача информации, 3P, 5P, **3–7**, 7P, 511, 512P
- Матричноактивная лазерная десорбция/ионизация с времяпролетным масс-спектрометром (MALDI-TOF), 801–803
- Мегакариоциты, 1688, 2223T, 2224, 2226, 2229P, *см. также* Клетки крови; Тромбоциты
- Медиатор воспаления, 2351–2352
- Медиатор, транскрипция, 527
- Медиатор-зависимые ионные каналы, **1049–1051**, 1367, *см. также конкретные рецепторы*
- ацетилхолиновые рецепторы, **1051–1054**
- влияние психотропных лекарств, **1054–1056**
- изменение проницаемости, 1050
- локализация, 1050
- нервно-мышечные соединения, 1051–1054, 1056–1057
- Медленные K⁺-каналы, 1058
- Междоузлие (стебель растения), 2139P, 2150
- Межклеточная адгезия, *см. также* Клеточные контакты; Соединения между клетками и матриксом; Внеклеточный матрикс
- каркасные белки (скэффолд-белки), 1759, **1764–1765**
- клеточная пролиферация и, 1771–1773
- методы, 1744
- молекулы клеточной адгезии, 1805T
- дендритные клетки, 2413
- интегрины, 1742, 1759, 1761
- кадгерины, **1741–1767**
- селектины, **1759–1761**
- суперсемейство иммуноглобулинов, 1759, **1761–1762**
- расслаивание, 1751P, **1751–1753**, 1753P, 1755P
- роль Ca²⁺, **1744–1745**
- селективная адгезия, 1749P, **1749–1751**, 1751P
- сигнализация, **1759**
- *ср.* гетерофильное и гомофильное связывание, 1748P
- формирование синапса и, **1762–1765**, 1765P
- Межклеточная коммуникация, **1346–1514**, *см. также* Клеточные контакты; Нейромедиатор(ы); Рецептор(ы); Сигнальные молекулы/пути; Передача сигнала (сигнальная трансдукция); *отдельные сигнальные молекулы и пути*
- адаптация, 1514, 1515, 1515P
- аутокринная, 1350
- внеклеточные сигналы, сочетание, 1356, 1357P
- контакт-зависимая, 1350, 1350P, *см. также* Эфрин(ы); Notch рецепторный белок

- оксид азота, 1361P, **1360–1363**
- паракринная, **1350**, 1352P, 1354
- поверхностные рецепторы, *см.* Поверхностные рецепторы клеток
- почкующиеся дрожжи, спаривание, 1348, 1348P
- различные ответы в разных типах клеток-мишеней, 1357P, **1357**
- скорость ответа, **1358–1360**, 1360P
- у растений, **1518–1519**
- угарный газ (монооксид углерода), 1363
- щелевые контакты, 1356P, **1356**
- эволюция, **1518**
- эндокринная, 1352P, **1352–1354**, 1354P, *см. также* Гормоны
- Межклеточные белки клеточной адгезии (ICAM), 634, 1761, 2445T
- Межклеточный контакт, *см. также* Межклеточная адгезия; Клеточные контакты
 - костный мозг, 2231
 - полимеризация актина через Rac, 1607
 - рост капилляров, 2216
- Межклеточный перенос генов, *см.* Горизонтальный перенос генов
- Межполюсные микротрубочки, 1651, 1652P, 1656
- Межфолликулярный эпидермис, 2169–2171
- Мезенхима, 1753
- Мезенхимальные клетки («незрелые» фибробласты), 2245
- Мезенхимальные стволовые клетки, 2245
- Мезодерма, 1998, 1998P, 2040, 2086, 2211
- Мезофилл (паренхима), клетки, 1299
- Мейоз, 48, 852P, **1674–1677**, 1941, 1946–1948, 1958, *см. также* Митоз
 - S-фаза мейоза, 1674
 - генетическое разнообразие и, **1944**, 1956P
 - длительность стадий, 1957, 1958P
 - контрольные точки, 1958
 - конъюгация гомологов, *см.* Гомологичные хромосомы (гомологи)
 - мейоз I, 1676P, 1674–1677, 1947P, 1947–1948
 - кинетохоры, 1953–1954
 - специфичные белковые комплексы, 1954, 1957
 - стадии профазы I, 1950–1951, 1951P
 - мейоз II, 1674, 1676P, 1677, 1947P, 1948, 1954
 - микроманипуляция, 1954
 - ооциты, 1957, 1968, 1972, 1975
 - ошибки, **1954–1956**
 - расхождение гомологов, 1953P, **1951–1954**, 1954–1956
 - регуляция, **1957–1958**
 - рекомбинация/кроссинговер гомологов, *см.* Гомологичная рекомбинация (кроссинговер)
 - *ср.* митоз, 1676P, 1946, 1947P, 1951–1953, 1953P
 - хромосомы типа «ламповой щетки», 358P
 - эволюционный консерватизм, 1957, 1965
- Мейотическая рекомбинация, *см.* Гомологичная рекомбинация (кроссинговер)
- Меланома, определение, 1850
- Меланосомы, 1206, 1567, 1567P, 1570P
- Меланоцитстимулирующий гормон (МСГ), синтез, 1233P
- Меланоциты, 2169P
 - лизосомальный экзоцитоз, 1206
 - меланосомы, *см.* Меланосомы
 - рыбы, 1569–1570
- Мелатонин, циркадные ритмы, 710
- Мелкоклеточный рак легких, мутации, 1922
- Мембрана/ы, *см. также* Липидный бислой; Липидные рафты; Плазматическая мембрана; *конкретные типы/локализации*
 - внутриклеточные, 38, 254, 1069T, 1069–1073
 - вязкость, 991
 - клетка печени (гепатоцит), 1069T
 - панкреатическая экзокринная клетка, 1069T
 - прочность, **994–998**
 - разрушение, 788
 - слияние, 1171P, 1173, 1178, 1179P
 - состав, *см. также* Липидный бислой; Фосфолипид(ы); *отдельные липиды*
 - белки, *см.* Мембранные белки
 - жирны кислоты, 90–91
 - липиды, **953–969**, 993P, **993**
 - фосфоинозитиды, 1161
 - стратегии внутриклеточных патогенов, 2316P, **2316–2320**

- структура, 954Т, **953–1000**, *см. также* Липидный бислой
- текучесть, **957–959**
- транспорт через, **1004–1063**, *см. также* Мембранный транспорт; Везикулярный транспорт
- непроницаемость, 920–921
- электрические свойства, **1027–1063**, *см. также* Мембранный потенциал
- Мембранные белки, 971Р, **969–1000**, *см. также конкретные типы/белки*
- гликозилирование, **979–980**
- гликозилфосфатидилинозитольный якорь, 1139Р, **1139–1140**
- дисульфидные связи, 980
- диффузия, 990Р, **988–998**
- интегральные, 971
- количество, 969
- локализация, 722–751, 993Р, **993**
- многокомпонентные комплексы, **988–990**
- отслеживание траекторий отдельных частиц, 991
- периферические, 971
- прикрепление к липидному бислою, **969–971**, 972Р
- расположенные на внешней поверхности, 971
- растворимость, **980–986**
- связанные с липидами, 971
- структура, 203
- трансмембранные, *см.* Трансмембранные белки
- эндоплазматический ретикулум, 722
- Мембранный потенциал, 1007, 1030, 1033Р, 1263Р
- внутренняя мембрана митохондрий, 1262–1263, 1263Р
- покоя, 1030, **1030–1033**, 1033
- Мембранный транспорт, *см. также* Активный транспорт; Каналы, белки
- белков, **1067–1131**, *см. также* Эндоплазматический ретикулум (ЭР); Сортировка белков; Транслокация белков; Транспорт белков
- везикулярный транспорт, *см.* Везикулярный транспорт
- внутриклеточный, **1152–1176**
- значение, 1004
- малых молекул, **1004–1063**, *см. также* Активный транспорт; Белки-переносчики; Каналы, белки; Ионные каналы
- — *Thermotoga maritime*, 14Р
- — белки-переносчики и активный транспорт, 12–14
- принципы, **1004–1009**
- стратегии внутриклеточных патогенов, 2316Р, **2316–2320**
- Мембраноатакующий комплекс, 2344, 2344Р
- Меристема, 1518, 1831, 2145
- апикальная, *см.* Апикальная меристема
- плазмодесмы, 1785
- поддержание, **2154–2155**, 2155Р
- последовательное развитие, **2145**
- размер, 2154–2155
- регуляция Clv1, 1518, 1519Р
- цветка, 2160
- Метаболизм, 102, *см. также* Метаболические пути
- активированные переносчики, 125Р, **125–136**
- анаболизм/биосинтез, *см.* Биосинтез
- катаболизм, *см.* Катаболизм
- равновесие, 160
- регуляция, **158–160**
- сотрудничество, 160
- увеличение скорости мультиферментными комплексами, 252–254
- Метаболические карты, 104Р, 160Р
- Метаболические пути, *см. также* Биосинтез; Катаболизм; *конкретные пути*
- взаимосвязь, 104Р, 157
- организация, 102, 102Р, 158, 160РР
- ферментативный катализ, 102Р
- — регуляция, 256Р, 254–258
- эволюция, 1334–1336
- Метаболическое равновесие, 160
- Металлическое напыление, электронная микроскопия, 938, 939Р
- Металлопротеазы матрикса (ММР), 1829
- Метаморфоз, *Drosophila*, 2031, 2066
- Метастазы (вторичные опухоли), 1850, 1850Р, 1870
- деградация внеклеточного матрикса, 1828, 1829, 1829Р
- колонизация удаленной ткани, 1870, 1913

- локальная инвазия/инвазивность, 1870, 1911
- мутации, приводящие к, **1911–1913**
- наблюдение, 1913
- препятствующие факторы, 1870, 1913P
- проникновение в кровоток, 1720, 1871P, 1913
- простой и сложный этапы, 1913P
- процесс (этапы), 1870, 1871P
- Метафаза, 1622, 1648P, *см. также* Митотические хромосомы
- движение хромосом, 1668
- динамика микротрубочек, 1658
- структура хромосом, 371, 371P
- Метафазная пластинка, 1666
- Метилирование, *см. также* Метилтрансферазы
- ДНК, *см.* Метилирование ДНК
- гистоновых хвостов, 340, 341P
- рРНК, 554, 556P
- Метилирование ДНК, 728P
- 5-метилцитозин, 721, 721P
- CG (CpG) островки, 668, **725–726**
- геномный импринтинг, **722–725**
- метилированные ДНК-связывающие белки, 722
- направляемое цепью исправление ошибок спаривания, 425P, 425–426, 436P
- наследование, 721P, 721–722
- неконтролируемое, 454P
- прокариоты, 425–426, 432, 436P
- системы рестрикции-модификации, 820
- раковые клетки, **1860**
- роль в мутациях, 460–462, 462P
- узнавание повреждения, 460–462
- ферменты, 436P, 721
- функции узнавания, 425–426, 820
- экспрессия генов и, 721–722, 722P
- эукариоты, 426
- Метилированные ДНК-связывающие белки, метилирование ДНК, 722
- Метилтрансферазы
- ДНК, *см.* ДНК-метилтрансферазы
- кэпирование 5'-мРНК, 531, 533P
- Метионин, 158, 195P
- Метионинаминопептидазы, 608
- Метионинового оперона репрессор, β -лист, 651P
- Метод локальной фиксации потенциала, *см.* Пэтч-кламп
- Метод рекомбинантных ДНК, **820–850**, *см. также* Генетическая инженерия; Рекомбинантные белки; *конкретные методы*
- ПЦР, 840P, **839–841**, 841P
- библиотеки ДНК, **833–836**, 836, 837P
- гибридизация нуклеиновых кислот, 820, 828, 829P, 831P
- гибридизация *in situ*, 820
- идентификация точки начала репликации у человека, 444, *см. также* Геном человека
- исторические аспекты, 820, 822T
- клонирование ДНК, *см.* Клонирование ДНК
- мечение ДНК, 823, 826P, *см. также* ДНК-зонд(ы)
- микрочипы ДНК, 828
- основные принципы, 820
- применение сайт-специфической рекомбинации, 497–498
- репортерные гены, *см.* Репортерные гены
- секвенирование ДНК, *см.* Секвенирование ДНК
- синтез РНК, 841
- синтез белков, *см.* Рекомбинантные белки
- трансгенные организмы, *см.* Трансгенные организмы
- ферменты рестрикции, 820, **820–822**, 823P
- электрофорез, *см.* Электрофорез
- Механорецепторы, механорецепторная щетинка, 2071P
- Меченые нокауты, функциональная геномика, **874–877**
- Миастения гравис, 2377
- Миграция клеток, *см. также* Подвижность/движение клеток
- в развитии, 1751, 1751P, **2099–2102**
- внешние сигналы/направляющие молекулы, **1604**, 1751
- деградация внеклеточного матрикса, 1828, 1829, 1829P
- интегрины и, 1795–1796
- нейронная, 2118P
- эпителиальные клетки кишечника, от крипт до ворсинок, 2203P

- Миграция точки ветвления, 477Р, 488, 488Р, 492Р
- Миелиновая оболочка
- распространение потенциала действия, 1044Р, **1042–1045**, *см. также* Потенциал действия
 - структура, 1045Р
- МикроРНК (miРНК), 516, 762Р, **760–764**
- Микробная флора, *см. также* Бактерии
- нормальная, 2275, 2300
 - патогенная, *см.* Патоген(ы)
- Микробспецифичные иммуностимуляторы, 2340, 2341, **2361**
- Микроворсинки
- мембранный транспорт, 1015
 - нуклеация актиновых филаментов, 1527
 - пучок актиновых филаментов, 1520, 1520Р
 - структура, 1546Р
 - яйцеклетка, 1983, 1983Р
- Микродиссекция, 776, 777Р
- Микроинъекция, ввод мембранонерастворимых веществ, 920–921
- Микросателлитная ДНК, гипервариабельная (VNTR), 843Р
- Микроскопия
- анализ клеточного цикла, 1629
 - анализ структуры клетки, **892–910**
 - гибридизация *in situ*, 901, 902Р
 - исторические аспекты, 775, 775Р
 - масштабы, 893, 893Р
 - обработка изображений, **898–899**, 899Р
 - приготовление препаратов, 852–853, 901
 - — изготовление срезов, 901, 901Р, 931
 - — окрашивание, 852–853, 892, 901, 901Р
 - — фиксация, 901, 931, 931Р
 - разрешающая способность, 895Р
 - световая микроскопия, *см.* Световая микроскопия
 - электронная микроскопия, *см.* Электронная микроскопия
- Микроскопия флуоресценции полного внутреннего отражения (TIRF), 922, 924Р
- Микросомы, 789, 1115, 1115Р
- Микроспоридии, 2314–2316, 2316Р
- Микротом, 901, 901Р
- Микротрубочки, 1519Р
- взаимоотношения с митохондриями, 1254, 1255Р
 - вспомогательные белки, 1522, 1525Р
 - деление клетки и, 1520, *см. также* митоз (*ниже*)
 - деполимеризация, 1651, 1666Р, 1673, 1840
 - динамическая нестабильность, 1520, 1521Р, 1658, 1659Р
 - — роль centrosомы, 1606
 - конфигурация, астральная, 1523
 - кэпирование, 1538
 - межполюсные, 1588, 1588Р
 - митоз, 1651–1652, 1652Р, *см. также* Митоз; Митотическое веретено деления
 - — влияние хромосом на, 1659, 1661Р
 - — нестабильность/динамика, **1658**, 1659Р
 - — образование веретена деления, 1588, 1588Р, **1651–1653**, 1656
 - — прикрепление кинетохора, 1661, 1663, 1664Р
 - — цитокинез и, 1683Р, 1681–1685, 1685Р
 - нейроны, 1565, 1607–1609, 1609Р
 - нуклеация, 1522, 1522Р, 1587
 - опосредованное движение патогенов, 2323–2324
 - организация аппарата Гольджи, 1565
 - организация эндоплазматического ретикулума, 1565
 - плюс- и минус-концы, 1520, 1520Р
 - положение в клетке, 1520
 - поляризация клетки, взаимодействие с актиновым цитоскелетом, **1606**
 - пучки, организация посредством MAP, 1535, 1537Р
 - растительные клетки, 1685–1686, 1838Р, 1840Р, **1838–1842**
 - сайт связывания кинезина, 1556Р
 - сборка, 1520, *см. также* Микротрубочки, нуклеация; Тубулин(ы)
 - свойства, 1519
 - скорость роста плюс-/минус-конца, 1520, 1520Р
 - структура, 1519, 1519Р, 1520, 1520Р, *см. также* Тубулин(ы)
 - субъединицы, 1520
 - типы моторных белков, 1556–1558, *см. также* Кинезин(ы)
 - тредмиллинг, 1520РР, **1520–1521**

- фибробласты, 1609P
- Микротрубочковый ток, 1666, 1668P, 1673
- Микрофибриллы, 1824–1825, 1834P, **1834–1835**
- Микрофиламенты, *см.* Актин/актиновые филаменты
- Микрохирургия, *C. elegans*, 2024
- Микроэлектрод(ы), измерение внутриклеточной концентрации ионов, 918
- Минимальный набор генов, 14, 875–877
- Миобласты, 715
 - дифференцировка, 2239
 - микрофотография клеточной культуры, 779P
 - поддержание, сигналы, 2242
 - происхождение в сомитах, 2099–2100
 - рекрутирование, рост мышечных волокон, 2242
 - слияние, 2239, 2239P
 - сохранение как сателлитных (стволовых) клеток, 2242
 - формирование волокон скелетных мышц, 2241–2242
- Миогенин белок-регулятор генов, 715
- Миогенные белки, 715, 715P, *см. также* MyoD белки-регуляторы генов
- Миоглобин, 29, 31P, 217P
- Миозин I, 1554, 1554P
- Миозин II, 1551
 - механохимические циклы, 1560P
 - мышечное сокращение, **1574–1577**
 - подвижность клеток, 1594P, 1598
 - процессивность, 1564
 - регуляция фосфорилированием, 1570–1572, 1572P
 - рычаг, 1564, 1564P
 - сократительное кольцо (цитокинез), **1678–1679**, 1681, 1681P
 - структура, 1551P
 - толстый филамент, 1553P
 - упаковка филаментов, 1574
- Миозин V, 1554, 1564, 1567
- Миозин(ы), **1551–1556**, *см. также конкретные типы*
 - генерация силы, 1559
 - гидролиз АТФ, 1553, 1560P
 - моторная активность головки, 1553P
 - мышечное сокращение, **1574–1577**
 - немышечный, 1553–1554
 - подтипы, 1554, 1554P
 - рабочий ход, 1559
 - ригорное (сцепленное) состояние, 1562
 - скорость движения, 1553P
 - структура, 1553, 1554, 1558P, 1559
 - ферментативное расщепление, 1553
 - цикл структурных изменений, 1559
 - эволюционное происхождение, 1558–1559
- Миоклоническая эпилепсия с рваными мышечными волокнами (MERRF), 1327
- Миостатин, 1703, 1704P
 - контроль роста мышц, 2241, 2242P
 - мутации в мышцах, 2242P
 - мутация гена, эффект, 2226–2242
- Миотония, потенциал-зависимые ионные каналы, 1049
- Миофибрилла, 1574, 1575P
- Миоэпителиальные клетки, 2183P, 2238P, 2238–2239
- Мир РНК, *см.* Гипотеза мира РНК
- Митоген(ы), **1692–1693**, *см. также* Факторы роста; *конкретные митогены*
 - внутриклеточные сигнальные пути, 1693, 1699, **1699–1700**, 1700P
 - конкуренция за, **1703**
 - особенности, 1692–1693
 - стимуляция G₁-Cdk, **1693–1696**
 - стимуляция G₁/S-Cdk, **1693–1696**
- Митоген-активируемые протеинкиназы, *см.* MAP-киназы
- Митоз, 319P, 1622, 1623P, **1646–1677**, *см. также* Клеточный цикл; Цитокинез; Мейоз; Микротрубочки
 - APC/C и завершение, **1670**, 1672P
 - асимметричное деление клеток, **1688**
 - без цитокинеза, **1688–1689**
 - вход в
 - Aurora-киназа, 1650, 1664
 - M-Cdk и, **1646**, **1650–1651**, **1655–1656**
 - Polo-подобные киназы, 1650
 - динамика микротрубочек, 1658, 1659P
 - инактивация Cdk, **1689–1691**
 - кинетохор и, 1661–1663
 - конденсин и, **1651**
 - контрольные точки, 1632, 1639, 1646, **1672**, *см. также* Контроль клеточного цикла

- митотическое веретено деления, *см.* Митотическое веретено деления
- нестабильность микротрубочек и, **1658**, 1659P
- расхождение хромосом, **1673–1674**
- *ср.* мейоз, 1676P, 1946, 1947P, 1951–1953, 1953P
- стадии, 1646, 1648PP, *см. также конкретные стадии*
 - анафаза, 1622, 1649P, 1673P, **1673–1674**
 - метафаза, 371, 371P, 1622, 1648P
 - прометафаза, 1648P
 - профаза, 1622, 1648P
 - телофаза, 1623, 1649P, **1674**
- структура хромосом, *см.* Митотические хромосомы
- удвоение центросомы, **1655**
- упаковка хромосом, 1645–1646, **1674**
- функция центриолей, 1652
- ядерная пластинка, разрушение, 1091–1094, 1094P
- Митотические хромосомы, 319P, 319–321, 371P, **371**, 373P, **375**
 - конденсация, 371, 373P, 1651P
 - М-Cdk и, 1646
 - конденсация хроматина, 1645
 - роль конденсина, **1651**
 - метафаза, 371, 371P
 - прикрепление веретена деления, **1661–1663**, 1664P, *см. также* Кинетохор
 - действующие силы, 1666P, 1668P, **1666–1670**, 1673
 - механизм би-ориентации, 1664P, 1663–1666
 - неприкрепленные хромосомы и, **1672**
 - расхождение, 1326, 1326P, 1670P, **1670**, **1673–1674**
 - сборка биполярного веретена деления, **1659–1661**
 - сестринские хроматиды, 371, 371PP
 - механизм би-ориентации, 1664P, **1663–1666**
 - прикрепление веретена деления, **1661–1663**
 - расхождение, 1670, 1670P, 1672P, **1672**
 - удвоение центросомы, **1655**
- Митотический индекс, 1629
- Митотическое веретено деления, 319P, 1622, *см. также* Митотические хромосомы
 - асимметричное деление клеток, 1688P, **1688**
 - длина, 1656
 - как состоящая микротрубочковая машина, 1652P, **1651–1653**, 1656, *см. также* Микротрубочки; Моторные белки
 - биполярная структура, 1587–1588, 1651–1653, 1659
 - классы, 1587, 1588P
 - нестабильность, 1588, **1658**, 1659P
 - сборка, **1587–1588**, 1588P
 - плоскость деления при цитокинезе, **1681–1685**
 - прикрепление хромосом, **1661–1663**, 1664P, *см. также* Кинетохор
 - действующие силы, 1666P, **1666–1670**, 1673
 - механизм би-ориентации, 1664P, **1663–1666**
 - неприкрепленные хромосомы и, 1672
 - промежуточные филаменты, роль, 1519
 - разборка, 1622–1623, 1674
 - сборка, 1094P, 1653P, 1655P, 1656P, **1653–1661**, 1661P, 1672
 - *ср.* ламеллоподии, 1594
 - фотоактивационная визуализация, 915–916, 916P
- Митохондриальная ДНК, *см.* Митохондриальный геном
- Митохондриальная электрон-транспортная цепь, 1251, **1260–1262**, 1272P, **1277–1289**
 - переносчики электронов, **1274**, **1277**, *см. также* Окислительное фосфорилирование, *см. также* Ферментные комплексы дыхательной цепи, *см. также* Цитохром(ы)
 - дыхательный контроль, **1286–1288**
 - железо-серные белки, 1276P, 1277
 - запасание энергии, 1263
 - кофермент Q (убихинон), 1277, 1279P
 - обратный ток электронов, 1288
 - окислительно-восстановительные потенциалы, 1283, 1283P
 - разобщение, 1285
 - случайные столкновения, 1282
 - спектроскопия, 1277, 1279P

- туннелирование электрона, 1266–1267
- ферментные комплексы, *см.* Ферментные комплексы дыхательной цепи
- цитохромы, 1274, 1276Р, 1277
- энергетика, 1260, 1262Р
- *ср.* хлоропластная, 1251, 1254Р, 1310–1311, 1312Р
- Митохондриальные заболевания, 1327
- Митохондриальный геном, 1314–1315, 1321Р, 1332Р, **1330–1334**
 - митохондриальные заболевания, 1327
 - менделеевское наследование, **1324–1326**, 1326Р, **1327**
 - нуклеоид, 1318
 - отличия генетического кода, 563, 1322, 1322Т
 - разнообразие, **1318**, 1321Р
 - размер, 1318Р
 - число копий, 1315Т, 1317
 - репликация ДНК, 1314–1315, 1315Р, 1317
 - человека, 1321Р, 1321–1322
 - мутации, 1327
 - число копий, 1317
 - эволюция, **1318–1319**, 1321Р
 - поддержание, **1330–1334**
 - скорость молекулярных часов, 1322
 - экспрессия генов, 744, 746Р, 1321–1322
 - транскрипция, 1323
- Митохондриальный импорт белков, 1100РР, **1095–1104**
 - ТИМ комплекс, *см.* ТИМ комплекс
 - ТОМ комплекс, *см.* ТОМ комплекс
 - белки-предшественники, 1095, 1099
 - белки-транслокаторы, **1097–1099**
 - белки-шапероны, 1099, 1100Р, **1101**
 - во внутреннюю мембрану/межмембранное пространство, 1103Р, **1101–1104**
 - использование энергии, 1100Р, 1100–1101
 - комплекс ОХА, 1097Р, **1099**, 1103, 1103Р
 - комплекс SAM, **1099**
 - механизмы, 1100РР
 - последовательность остановки переноса, 1103
 - сайты контакта, 1099Р, 1099–1100, 1103Р
 - сигнальные последовательности, 1097, 1097Р
- Митохондриальный ретикулум, дрожжи, 1315, 1317Р
- Митохондрии, 41Р, 1068, **1254–1272**
 - β -бочонковые белки, 979
 - ДНК, *см.* Митохондриальный геном
 - бесклеточные системы, 789
 - биогенез, 1314, 1314Р, **1327–1329**, 1329Р
 - в разных типах клеток, 1315
 - взаимоотношение с микротрубочками, 1254, 1255Р
 - геном, *см.* Митохондриальный геном
 - глутатионпероксидаза, 1330
 - импорт белков, *см.* Митохондриальный импорт белков
 - импорт в, 1143, *см. также* Митохондриальный импорт белков
 - импорт липидов, 1329–1330
 - исторические аспекты, 1254–1255
 - клеточный метаболизм, 1288–1289, 1289Р
 - кодируемые в ядре тканеспецифические белки, 1329, *см. также* Митохондриальный импорт белков
 - локализация, 1254, 1255Р
 - образование тепла, 1288
 - объем, 1069Т
 - поддержание высокого отношения АТФ:АДР, 1266–1267
 - преобразование энергии, **1254–1272**, *см. также* Синтез АТФ
 - высокоэнергетические электроны, **1257**
 - окисление пищевых молекул, 152Р, 1260Р
 - окислительное фосфорилирование, *см.* Окислительное фосфорилирование
 - ферментные комплексы дыхательной цепи, **1262**
 - цикл лимонной кислоты, *см.* Цикл лимонной кислоты
 - электронный транспорт, *см.* Митохондриальная электрон-транспортная цепь
 - энергетика, 1260, 1260Р
 - распределение при цитокинезе, 1686
 - редактирование РНК, 744, 746Р
 - роль в апоптозе, 1722Р, **1722**, 1723Р, 1726Р, 1728Р
 - высвобождение белков, 1722, 1725
 - мембранный потенциал, 1717
 - рост и деление, 1315–1317, 1317Р

- синтез белков, 1314Р, 1314–1315, 1329, 1332Р, *см. также* Митохондриальный геном
- синтез кардиолипина, 1329–1330, 1330Р
- старение клеток, 1330
- структура, *см.* Митохондрии, структура
- супероксиддисмутаза, 1330
- фракционирование, 789, 1257Р, *см. также* Фракционирование клеток
- цикл мочевины, 1329
- эволюция, **39–40**, 41Р, 1074, 1076Р, **1318–1319**, 1319Р, 1338, 1340Р
- сходство с бактериями, 1315, 1318
- яды, 1282, 1285
- Митохондрии, структура, 1095, 1095Р, **1254–1257**, 1257, 1258Р, *см. также* Митохондриальный геном
- внешняя мембрана, **1095**, 1255, 1257, 1258Р
- внутренняя мембрана, **1095**, 1257, 1257, 1258Р, 1263Р
- транспорт через, 1264
- туннелирование электрона, 1282–1283
- ферментные комплексы дыхательной цепи, 1262, 1277–1279
- электрохимический градиент, 1262–1263, 1263Р
- встраивание поринов, 1101, 1101Р
- кристы, 1257, 1257Р
- матрикс, 1255, 1258Р, 1310
- межмембранное пространство, 1095, 1255, 1258Р
- пространство матрикса, **1095**
- роль в дыхании, 1263, *см. также* Электрон-транспортные цепи; Окислительное фосфорилирование
- состав мембраны, 1069Т
- *ср.* хлоропласты, 1292–1293, 1295Р
- Михаэлиса – Ментен уравнение, 244Р
- Мицеллы, 180Р, 956, 957Р, 982
- Мишени, белки, апоптоз, 1717–1719
- Млекопитающих генетика
- генетический консерватизм, 56–58
- импринтинг, **722–725**
- контролируемые области генов, **693–697**
- регуляторные белки, 644Т
- Млекопитающих клетки
- клеточные культуры, анализ клеточного цикла, 1629Р, **1629**
- митохондриальная ДНК, 1318
- редактирование мРНК, 746
- репликативное старение, 1629
- репликация ДНК, 431Р, 434–436
- химический состав, 98Т
- Млекопитающих развитие, **2107–2115**, *см. также* Мыши развитие; *отдельные виды*
- лево-правая асимметрия, 2104Р, 2104–2105
- разветвляющийся морфогенез (легкого), 2111–2113, 2113Р
- ранние стадии и внезародышевые мембраны, 2108Р, 2108–2110
- регуляторные свойства раннего зародыша, **2110**
- эмбриональные стволовые клетки (ЭС, ES), 2110–2111, 2111Р
- Многовидовые консервативные последовательности, 385Р, 385–387
- Многоклеточность, *см. также* Развитие; Ткани
- межклеточные взаимодействия, 1739–1740, *см. также* Клеточная адгезия; Клеточные контакты; Внеклеточный матрикс
- специализация клеток, *см.* Дифференцировка клеток
- эволюция, 1518
- Многообразии клеток, роль Notch, 2081
- Многопроходные белки, *см.* Трансмембранные белки
- Многоядерные клетки, митоз без цитокинеза, 1688
- Множественная лекарственная устойчивость, 1023–1025
- Мобильные генетические элементы, 483, *см. также* Повторы ДНК; Транспозон(ы); Вирус(ы); *конкретные элементы*
- *Drosophila melanogaster*, 486Т
- бактериальные, 486Р
- механизмы встраивания, *см.* Сайт-специфическая рекомбинация
- человеческий геном, 318Р, 486Т
- Alu семейство, 382Р, 494РР
- LINE, 318Р
- SINE, 318Р
- ДНК-транспозоны, 318Р

- ретровирус-подобные элементы, 318P
- Мобильные элементы, *см.* Транспозон(ы)
- Модельные организмы, 36, *см. также отдельные модели*
- *Arabidopsis*, 52P, **52, 2139–2140**
- *Caenorhabditis elegans*, **52–53, 563P**
- *Drosophila melanogaster*, 53P, **53–55, 2030–2031**
- *E. coli*, **35–36, 36P**
- дрожжи, **47–48, 48P**
- мышь, **47–48, 48P**
- человек, **58, 63P**
- Модификация гистонов, 341P, **340–343**
- аминокислотные боковые цепи, 340, 340P
- ацетилирование/деацетилирование, 446
- гистонацетилтрансферазы (НАТ), 340, 527, 527P
- гистондеацетилазные комплексы (HDAC), 340, 687
- иммунопреципитация хроматина, 665, 665P
- модификация «хвостов» гистонов, 340, 341P
- перестройка хроматина, 680, 682P
- политенные хромосомы, 364P
- функциональная роль
- гипотеза гистонового кода, **343–346, 346P**
- транскрипция, 527
- эпигенетика, 728, 728P
- Модульная организация, ген *Eve*, 2046
- Моезин, 1548
- Мозаицизм, 1327, 1327P
- Мозаичный эффект положения, 338, 338P
- Мозг, сенсорные карты, 2128P, 2129P, 2128–2134
- Молекула адгезии нервных клеток (NCAM), 1761–1762
- Молекулы, 73
- большие, *см.* Макромолекулы
- гидрофильные, 80
- гидрофобные, 80
- малые клеточные органические, *см.* Органические молекулы (малые, клеточные)
- способы представления, 78
- Молекулы клеточной адгезии (CAM), 1805T, *см. также конкретные типы*
- ICAM, 634, 1761, 2445T
- кадгерин(ы), *см.* Кадгерин(ы)
- межклеточная адгезия, 1805T, *см. также* Соединения между клетками и матриксом; Интегрин(ы)
- селектины, **1759–1761**
- суперсемейство иммуноглобулинов, 1759, **1761–1762**
- суперсемейство интегринов, *см.* Интегрин(ы)
- формирование синапса и, **1762–1764**
- функция Т-клеток, 2413
- Молекулярная масса
- измерение, центрифугирование, 805–807
- определение, 68
- Молекулярная мимикрия, факторы терминации трансляции, 586, 587P
- Молекулярная эволюция, **375–398**
- гипотеза часов, 379–381
- митохондрии, 1322
- филогенетика, 378, 378, 379P
- Молекулярное движение, 115–117, 117P
- Молекулярные моторы, *см.* Моторные белки
- Молекулярные переключатели, 1371, 1371P, **1371–1375**
- GTPазы, 271, 271P, *см. также отдельные белки*
- Ran GTPазы, 1088–1089
- Rho семейство GTPазы, 1599–1601
- в сборке везикулярной оболочки, 1164–1166
- контроль клеточного цикла, 1632, **1637–1639, 1651**
- Молекулярные часы, **379–381, 1322**
- Молекулярные шапероны, *см.* Шапероны
- Моллюск, развитие глаза, Рах-6, 1996P
- Молоко, образование и секреция, 2183, 2183P
- Молочная железа
- альвеолы, 2183P, 2183–2185
- базальная мембрана, 2185
- миоэпителиальные клетки, 2183P
- циклы развития и регрессии, 2183P, 2182–2185
- Молчащие мутации, 405
- Молярность, определение, 69
- Моноаллельная экспрессия, эпигенетика, 730

- Моноклональная реакция (лимфоциты), 2370
- Моноклональные антитела, **785–786**, 786P
- в терапии рака, 1927
 - иммунофлуоресцентная микроскопия, 904, 905P, 907
- Мономерные ГТРазы, *см.* ГТР-связывающие белки (ГТРазы)
- Моносахариды, 85, 88P, 177P
- Моноубиквитинирование, 1516
- Моноциты, 2222, 2222P, 2223T, 2229P
- Морские беспозвоночные, оплодотворение, 1982
- Морской еж, гастрюляция, 1998P
- Морула, 2108, 2108P
- Морфогены, градиенты, *см. также конкретные морфогены*
- имагинальный диск крыла *Drosophila*, 2066
 - определение, 2014
 - пути развития в зависимости от положения, 1358, 1358P
 - яйцо *Drosophila*, 2039P, 2037–2040, 2040P
- Моторные белки, **275–276**, **1550–1572**, *см. также конкретные типы*
- актиновые, *см.* Миозин(ы)
 - биологические функции, 275, 1550, 1565–1567, *см. также* Митоз; Митотическое веретено деления
 - аксональный транспорт, 1565, 1609P
 - движение веретена деления, **1587–1588**
 - динамика микротрубочек и, 1658
 - локализация РНК, **1565–1567**
 - расхождение полюсов веретена деления, 1673
 - сборка/функционирование веретена деления, 1653P, **1653**, 1656, 1656P
 - сокращение мышц, **1574–1580**
 - транспорт органелл, **1565–1567**
 - гидролиз АТФ, 1560P, **1559–1562**, *см. также* Гидролиз АТФ
 - кинетика, **1564–1565**
 - конформационные изменения, 1559–1562
 - механизмы, **1559–1564**
 - микротрубочковые, **1556–1558**, *см. также* Динеин(ы); Кинезины(ы)
 - регуляция, **1569–1572**
 - эволюционное происхождение, **1558–1559**
- Моторные белки актина, **1551–1556**, *см. также* Миозин(ы)
- Моторные белки микротрубочек, **1556–1558**, *см. также* Кинезин(ы)
- Моторные нейроны, 1057, 1057P, 2118, 2120P
- Мочевина, 158, *см. также* Цикл мочевины
- Мочевой пузырь
- инфекции, уропатогенная *E. coli*, 2301, 2303P
 - рак, 1856P, 1881, 1883
- Муковисцидоз, 861, 1025, 1178
- Мультивалентные антигены, 2390
- Мультивезикулярные тельца, 1220P, 1222P, **1220–1223**, 1223P
- Мультитипотентные стволовые клетки, *см.* Стволовые клетки
- Мультиубиквитинирование, 1220
- Мультиферментные комплексы, 252–254, 254P, *см. также* Белковые комплексы
- Мунтжак, различия в хромосомах, 313–315, 315P
- Муравьиная кислота, окисление, 1335, 1335P
- Мускариновые ацетилхолиновые рецепторы, 1515
- Мусорная ДНК, 313, 1319, *см. также* Некодирующая ДНК
- Мутагенез, *см. также* Мутация/и
- *in vitro*, 884
 - анализ экспрессии генов, 855
 - дрожжи, 875
 - карциногенез, **1853**
 - механизмы, 454, 457P, 490P, 814P, 855, *см. также* Мобильные генетические элементы
 - сайт-специфический, 868, 868P
 - случайный, 850, 855
- Мутагенез *in vitro*, 327, 884
- Мутаторы, 423–425
- Мутация с потерей функции, 814P, 856–858
- Мутация/и, 24–26, 404, 853P, *см. также конкретные типы*
- белки, влияние на, 853P
 - внутригенные, 27, 28P
 - гистонов, 327
 - делеция, 853P
 - дестабилизирующие, 406, 1862
 - доминантно-негативные, *см.* Доминантно-негативные мутации

- доминантные, 858
- зародышевой линии, 405, 406
- идентификация, 855–856, 860–861, *см. также* Генетический скрининг
- инверсия, 853P
- летальные, 853P
- механизмы, 454, 457P, *см. также* Мутагенез
- молчание, 405
- нейтральные, 26
- ноль-мутации, 853P
- последствия, 405, 875, *см. также* Рак; Рак, критичные гены, *см. также* Эволюция генома
- развитие рака, 1697, **1854–1856**, 1866
- эволюционные «инновации», 27, 28P, 376
- при раке, 406, 1697, 1853, **1854–1856**, 1866, 1928
- рецессивные, 858
- с потерей функции, 853P, 856–858, 1886
- с приобретением функции, 853P, 856–858, 867P, 1886
- синонимичные, 378
- скрининг, ЭКО и, 1989
- соматические, 406, **1853**, 1854
- супрессорные, 853P
- точечные, замена основания, 376
- транслокации, 853P, 1928
- удаление естественным отбором, 405, 406
- условные, 853P
- температурочувствительные, 856, 856P, 1626, 1626P
- частота, *см.* Частота (скорость) мутаций Муха цеце, 2301
- Мышечная атрофия, наследственная спинно-мозговая, мутация белка SMN, 559–560
- Мышечная дистрофия, 1542, 1794, 1799, 2242
- Мышечные волокна, 1574P, 1636, 2239–2241, 2241P
- Мышечные клетки
 - визуализация, 2180
 - гладкие, 1361, 2219, 2238P, 2238–2239
 - дифференцировка, 715, 715P, 2239, 2263, *см. также* Миобласты; Миогенные белки
 - изоформы белков, 2241
 - несоординированные рост и деление, 1701
 - сердечные, 2238–2239
 - синцитий, 2239
 - скелетные, *см.* Скелетные мышцы
- Мыши развитие, **2107–2115**
 - зародыш, 2108, 2108P, **2110**
 - разветвляющий морфогенез (легкого), 2111–2113, 2113P
 - ранние стадии и внезародышевые мембраны, 2108
 - эмбриональные стволовые клетки (ЭС, ES), **2110–2111**, 2128P
 - яйцеклетка, 2108
- Мышца, **2238–2244**
 - базальная мембрана, 1787P
 - волокна, *см.* Мышечные волокна
 - дифференцировка стволовой клетки, 2180
 - иннервация моторного нерва, 2118
 - классы, 2238, 2238P
 - клетки, *см.* Мышечные клетки
 - полетная мышца насекомого, 1575P
 - развитие, 715, 715P, 2239, *см. также* Миобласты; Миогенные белки
 - расширяющая мышца, 2239
 - сердечная, *см.* Сердечная мышца
 - сердце, *см.* Сердечная мышца
 - скелетная, *см.* Скелетные мышцы
 - сокращение, **1574–1580**
 - модель скользящих филаментов, 1574–1577, 1577P
 - регуляция тропонином, 1578, 1580P
 - роль Ca^{2+} , **1577–1580**
 - структура, 1574, 1575P, 1577P, 1578, 1578P
- Мышь
 - геном, *см. также* Геномный импринтинг
 - импринтинг, 723P, 725P
 - консервативная синтения, 318, 319P, 382
 - сравнительная геномика, человек, 381P
 - транспозоны, 494, 494P
 - хромосомы, 449–451
 - как модельный организм, **56–58**, 63P, 2107
 - генетика, *ср.* человек, 2107
 - создание трансгенных мышей, 871P
 - химеры, 2110, 2110, 2111P
 - нокауты, *см. также* Нокаут генов
 - создание, 871P
 - трансгенные организмы, **869–872**, 872P

- развитие, *см.* Мыши развитие
- Наведение, *см.* Направление (наведение) мигрирующей клетки
- Надцарства живого мира, 24, 24P
- Наивные клетки, иммунный ответ, 2372, 2372P
- Направление (наведение) мигрирующей клетки, **1604**, 1751
- нейронов, 1751, 1762, 1805, 1821P, **2118–2125**, 2125
- Направляемое цепью исправление ошибок спаривания, 416, 425P, **423–426**
- Насекомые, *см. также Drosophila melanogaster*
- как векторы для микробных патогенов, 2300–2301
- Наследование, 1, 299
- «исключительно белковое наследование», дрожжи, 612, 612P
- менделевское, **1324–1326**, 1326P
- от матери, **1327**
- — хлоропласты, 1327P, **1327**
- передача информации, **1–7**
- эпигенетическое, 447, 1079, 1082
- — метилирование ДНК, 721P, 721–722
- — модификация гистонов, 446–447
- — структура хроматина, 355P, 352–358, 730–734
- Наследование по материнской линии
- митохондриальный геном, 1326P, **1327**
- хлоропластный геном, 1327P, **1327**
- Наследственная спинномозговая мышечная атрофия, мутация белка SMN, 559–560
- Наследственный неполипозный колоректальный рак (HNPCC), 425, 1919
- Наследуемость, 299, *см. также* Наследственность
- определяющее свойство живого, 1
- Насосы, *см.* Белки-переносчики
- Насосы ауксина, 1519
- Натриево-калиевый насос (АТРаза), 1019P, **1018–1020**
- осмотическая регуляция, 1030
- рабочий цикл, 1019P
- селективность, 1033
- Натриево-кальциевый обменник, 1017
- Натриевые каналы, потенциал-зависимые, *см.* Потенциал-зависимые натриевые каналы
- Натрий-зависимый симпорт, 1015
- Натуральные (естественные) киллеры (NK), 2223, 2223T, **2354–2355**
- активация, интерферон- β (IFN β), 2355
- разрушение зараженных вирусом клеток, 2354–2355
- узнавание МНС класса I, 2354–2355
- узнавание зараженных вирусом клеток, 2355
- Натяжение, движение клеток, 1596–1598, 1598P
- Небулин, 1577, 1577P
- Невриты, определение, 1607
- Негативная селекция, тимус, **2436–2437**, 2437P
- Негативное окрашивание, электронная микроскопия, **939**, 941P
- Негомологичное соединение концов, репарация двойных разрывов ДНК, 476–490, 490P
- Незрелая наивная В-клетка, 2384
- Нейлоновые мембраны, нозерн-блоттинг, 829–831, 831P, 831
- Нейральные стволовые клетки, 2261–2263
- Нейраминидаза, соединение субъединиц, 215, 215P
- Нейробласты, 2077–2079
- Нейродегенерация, 1609, *см. также* конкретные болезни
- белковые агрегаты, 609–611, *см. также* Прионные заболевания
- Нейролигин, формирование синапса, 1762–1764
- Нейромедиатор(ы), 1049, 1050, **1051**, 1352, 1361P, *см. также конкретные нейромедиаторы*
- управление ионными каналами, *см.* Медиатор-зависимые ионные каналы
- Нейрон(ы), *см. также* Нейромедиатор(ы); Синапс(ы); конкретные типы
- апоптоз, 1729, 1729P
- контроль размера, 1701, 1703P
- наделение ролей, **2118–2120**
- плазматическая мембрана, 993

- развитие, **2115–2137**, *см. также* Развитие нервной системы
- миграция, 2118P
- нейрогенез, 2077, 2077P, **2115–2118**
- связи между, **2118–2120**
- структура
 - аксоны, *см.* Аксон(ы)
 - дендриты, *см.* Дендрит(ы)
 - поляризованные клетки, 1237, 1237P
 - функции, **1038–1040**, 1057P, 1610P
 - цитоскелет, *см.* цитоскелет (*выше*)
- схема, 1038P
- цитоскелет, *см. также* Промежуточные филаменты
 - динамическая нестабильность, 1610
 - нейрофиламенты, 1521, 1521T, 1542, 1609
 - организация микротрубочек, 1609P
 - специализация, зависящая от цитоскелета, **1607–1612**
- щелевые контакты, 1783
- электрические свойства, **1057–1060**, *см. также* Потенциал действия
- Нейронная доктрина, 779
- Нейронные карты, 2128P, 2128–2131
- Нейроны сетчатки, *см.* Сетчатка
- Нейросферы, 2261
- Нейрофиброматоз, 1550
- Нейрофиламенты, 1521, 1521P, 1521T, 1609, *см. также* Промежуточные филаменты
 - организация, 1542
- Нейроэпителий, 2187, **2187–2192**
- Нейтральные мутации, 26
- Нейтрофилы, 2221
 - Toll-подобные рецепторы (TLR), 2348
 - апоптоз, 1716
 - быстрый оборот за счет апоптоза, 2236
 - клеточная линия и формирование, 2229P, 2234–2235
 - комплекс NADH-оксидазы, 2350
 - перестройка цитоскелета, 1520, 1520P
 - ползание клеток, 1590
 - поляризация, 1604P, 1606P
 - рецепторы, 2348–2350
 - структура, 2222P
 - фагоцитоз, 1208, 1209P, 2348–2350, 2390T
- Нековалентные взаимодействия, **82–83**, **175–176**
- ван-дер-ваальсово притяжение, *см.* Ван-дер-ваальсовы силы
- водородные связи, *см.* Водородные связи
- гидрофобные силы, 176P
- ионные связи, *см.* Ионные связи
- макромолекулы, 85P, 99, 99P, 191–192, 235, 238P
- слабые взаимодействия, 175P
- Некодирующая ДНК, 44, 313
 - из митохондрий, 1319
 - интроны, *см.* Интрон(ы)
 - обогащенные геномы, 44
- повторяющиеся элементы, *см.* Повторы ДНК
- Некодирующая РНК, **553–554**, *см. также конкретные типы РНК*
- Некроз, 1713
- Нематоды, *см.* *Caenorhabditis elegans*
- Неменделевское наследование, **1324–1326**, 1326P, 1326, 1327P, **1327**
- Неоднозначное соответствие, спаривание оснований, 566, 566P
- Неоплазма (опухоль), *см.* Рак
- Непрямая иммунофлуоресценция, 904P, 905, 905P
- Нерасхождение, 1893P, 1954–1956
- Нервная пластинка, 1783, 2094–2096, 2096P
- Нервная система, *см. также термины, начинающиеся с «нерв-» или «нейр-»; конкретные области/типы клеток*
 - апоптоз, 1713–1714
 - нейроны, *см.* Нейрон(ы)
 - развитие, *см.* Развитие нервной системы
 - экспрессия кадгеринов, 1745, 1745P
- Нервная трубка, 1751, 1753P, 2094, 2096P, 2118P
- Нервно-мышечное соединение, 1051P
 - ацетилхолиновые рецепторы, базальная мембрана и, 1792
 - ионные каналы, **1051–1054**
 - регенерация, базальная мембрана и, 1792P, 1792–1794
- Нервные клетки, *см.* Нейрон(ы)
- Нервные пути (волокна), 2122
- Нервный гребень, миграция клеток, 1590, 1751, 1751P, 2100, 2100P
- Неретровирусные транспозоны, 486T
- Нернста уравнение, 1030, 1032

- Несовершенный остеогенез, 1820
 Нетранслируемые области (UTR)
 — 3'-нетранслируемая область, 751, 753, 753Р
 — 5'-нетранслируемая область, 753
 Нетрин белок, 1610, 2123, 2123Р
 Неходжккинская лимфома, метастазы, 1850Р
 Нециклическое фотофосфорилирование, 1308РР, **1305–1310**, 1310
 — синтез АТФ, 148–149, 149Р, 1306
 — синтез NADPH, 148, 1306
 Нидоген, базальная мембрана, 1788, 1789, 1791Р
 Никотинамиддинуклеотид, *см.* NADH/NAD⁺
 Никотинамиддинуклеотидфосфат, *см.* NADPH/NADP⁺
 Никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, 1515
 Нитроглицерин, 1361
 Нитроцеллюлозные мембраны, 801Р, 829–831, 831Р
 Ниша стволовых клеток, сигнальные пути, 620Р
 Нокаут генов
 — кассета делеции, 875
 — методы, 871Р
 — мыши, 871Р, **869–872**, 872Р
 — функциональная геномика, **874–877**
 Нокаутные животные, *см.* Нокаут генов
 Нокодазол, 1521Т, 1565
 Нонсенс-опосредованный распад мРНК, 593Р, **592–595**, 595
 Норзерн-блоттинг, гибридизация нуклеиновых кислот, 829–831, 831Р, 831, 831Р
 Нормальная микробная флора, 2275, 2300
 Нос, эмбриональное происхождение, 2116Р, 2187
 Нуклеация (зарождение) цитоскелетного полимера, 1520, 1520Р, 1522, *см. также* Полимеризация актина; Микротрубочки
 Нуклеиновые кислоты, **182Р**
 — ДНК, *см.* ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота)
 — РНК, *см.* РНК (рибонуклеиновая кислота)
 — биосинтез, 134, 134Р, 136, 137Р, *см. также* Синтез ДНК; РНК, синтез
 — гибридизация, *см. также* Гибридизация ДНК
 — Саузерн-блоттинг, 831Р, 831Р, 831–833
 — метод рекомбинантных ДНК, 820, 828Р
 — нозерн-блоттинг, 829–831, 831Р, 831
 — условия гибридизации, 825–826, 828Р
 — нуклеотидные субъединицы, 95–96
 — происхождение жизни, 617–618, *см. также* Происхождение жизни; Гипотеза мира РНК
 — свойства, 617
 — спаривание оснований, *см.* Спаривание оснований
 — структура, 182Р
 — химия, 181–182, 182Р
 Нуклеозидтрифосфаты, полимеризация РНК, 512
 Нуклеоиды, 1318
 Нуклеокапсид, вирусы, 2293Р
 Нуклеопорины, 1083
 Нуклеосомы, **324–334**, 334, *см. также* Хроматин
 — 30-нм фибрилла, 324, 325Р, *см. также* Хроматин
 — взаимодействия с ДНК, изгибание ДНК, 328Р
 — динамическая структура, 330Р, 330–331
 — исторические аспекты, 337
 — кор-частица, 325Р, **325–328**, 328, *см. также* Гистоны
 — линкерная ДНК, 324
 — негистоновые белки, 324
 — определение структуры, рентгеновская дифракция, 325Р
 — перестройка хроматина, 330–331, 665, 667Р
 — репликация ДНК, 429, 445–446
 — связывание белков, 330
 — связывание гистона H1, 334, 334Р
 — скольжение, 330Р, 330Р, 330–331
 — структурная организация, 324, 324, 325Р
 — транскрипционные эффекты, 528
 Нуклеотиды, 3Р, **3**, 95–96, **181–182**, 182РР, *см. также конкретные нуклеотиды*
 — биосинтез, 158
 — в тРНК, 568Р
 — гидролиз, *см. также* Гидролиз АТФ
 — FtsZ белок, 1521
 — генерация силы моторными белками, 1559–1562

- кофилин, 1537
- сборка актиновых филаментов, 1520, 1537
- сборка микротрубочек, 1520, 1520P
- тредмиллинг, 1520, 1520P
- номенклатура, 182P
- переносчики энергии, 95, *см. также* АТФ (аденозинтрифосфат, АТФ)
- повреждение, 454, 454P, 456P
- структура, 95, 95P, 181P, 302
- субъединицы нуклеиновых кислот, 95, 96, 302, 509, *см. также* ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота); РНК (рибонуклеиновая кислота)
- Нуклеотиды терминации цепи, секвенирование ДНК, 847
- Нуклеофиламенты, взаимодействие RecA с ДНК, 492P
- Нуль-мутации, 814P
- ОМФ-декарбоксилаза, скорость реакции, 242P
- Обкладка сосудистых пучков, клетки, 1299
- Облегченная диффузия, 1007
- Облигатные патогены, 2281–2283
- Обмен с перекрещивание цепей, *см.* Холлидея структура
- Обменники фосфолипидов, **1143**
- Обновление и оборот клеток, *см. также* Регенерация; Стволовые клетки
 - в печени, 2208
 - молочной железы, 2182–2185
 - тонкого кишечника, 2197P, 2197–2200, 2202
 - эпидермиса, **2168–2185**
- Обогащенные маннозой олигосахариды, 1187P, **1187**
- Обогащенный актином кортекс, 1590P, 1591
- Оболочечные вирусы, 2293, 2306, *см. также конкретные вирусы*
- Обонятельная плакода, 2116P
- Обонятельные луковицы, нейральные стволовые клетки и оборот нейронов, 2188
- Обонятельные нейроны, 1515, 2187P, 2187P, **2187–2188**, 2188
- Обонятельные рецепторы
 - белки, при аксональном наведении, 2188
 - гены, 2188
- Обработка изображений, 10000
 - световая микроскопия, **898–899**, 899P
 - электронная микроскопия, **939–942**
- Обратная генетика, *см.* Генетика, обратная
- Обратная связь, *см.* Регуляция путем обратной связи
- Обратные двугибридные системы, 808
- Обратные транскриптазы, 405P, 448, *см. также* Теломераза
 - применение, клонирование кДНК, 836, 837P
 - ретротранспозоны, 486T
 - структура, ВИЧ, 491P
- Обрытый поток электронов, 1288, 1336, 1337P
- Общая масса клеток, контроль, 1692, **1704–1706**
- Общая рекомбинация, *см.* Гомологичная рекомбинация (кроссинговер)
- Общий эволюционный предок, 1322
- Овечка Долли, 1967
- Овуляция, завершение мейоза после, 1957, 1972, 1975
- Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), 861
 - отслеживание наследования, 864P, *см. также* Гаплотипные блоки
 - физическое картирование генов, 861, 861P
 - эволюция генома, 396
- Однопроходные белки, *см.* Трансмембранные белки
- Одноцепочечная ДНК, влияние SSB, 418, 419P, *см. также* SSB (белки, связывающие одноцепочечную ДНК)
- Одноцепочечные разрывы, 425, 425P, 426, 428P, *см. также* Направляемое цепью исправление ошибок спаривания
- Ожирение, 1863, 2257
- Окаймленные клатрином пузырьки, 1154, 1158P, **1158**, 1159P, 1163P
 - адаптин, 1160P
 - везикулярный транспорт, 1158P
 - отшнуровывание, **1158–1159**, 1160P, 1163P
 - регуляция, 1220
 - рецепторы груза, 1158–1159
 - структура, 1159P
 - формирование, **1159–1161**
- Окаймленные клатрином ямки, 1140P, 1213P
 - пиноцитоз, 1211P, 1211–1213

- эндоцитоз LDL, 1214P, 1214–1216, 1217P
- Окаймленные пузырьки, **1154, 1158**, *см. также* конкретные типы
- везикулярный транспорт, 1154, 1158, 1158P
- формирование
 - — ARF-белки, 1164
 - — белок Sar1, 1164
 - — рекрутирующие оболочку GTPазы, **1164–1166**
- Окисление, реакции, 110, 110P
 - β -окисление, пероксисомы, 1109
 - клеточная энергия, 126, **139–162**, 162, *см. также* Дыхание
 - перенос электрона, 112, 1273
 - пероксисомы, **1109**
 - *ср.* биологическое и горение, 1262P
- Окислительно-восстановительные (редокс) реакции, 1273–1274, 1277, *см. также* Окислительно-восстановительный потенциал
- Окислительно-восстановительные (редокс-) пары, 1273
- Окислительно-восстановительные (редокс-) реакции, 1273–1274, 1277
- Окислительно-восстановительный (редокс-) потенциал, 1273–1274, 1276P
 - изменение концентрации, 1276
 - измерение, 1276, 1276P
 - расчет ΔG , 1276
 - стандартный, 1276T
 - электронный транспорт, 1274, 1277, 1283, 1283P, 1308P, 1310
- Окислительное повреждение, ДНК, 454, 454P
- Окислительное фосфорилирование, 1260, 1260P, 1262P
 - синтез АТФ, 154, 157P, 1263–1264, 1264P, 1264, 1266
 - эволюция, 1335P, **1334–1336**, 1336
 - электронный транспорт, *см.* Митохондриальная электрон-транспортная цепь
- Окислительный метаболизм
 - гликолиз, 143, 145P, *см. также* Гликолиз
 - энергетика, 108
- Окклюдин, 1771
- Оконечная клетка, ветвление капилляров, 2214
- Окостенение, процесс, 2250P, 2249–2252
- Окраска шерсти, материнский эффект, 731, 731P, *см. также* X-инактивация
- Окрашивание белков, Кумасси (бриллиантовый синий), 798, 800P
- Окрашивание, гистохимическое, 852–853, 892, 901P
- Оксалоацетат, 154, 154P, 155, 187, 188P
- Оксид азота (NO), **1360–1363**, 2219
- Окситоцин, 2185
- Октилглюкозид, растворимость мембранных белков, 982
- Олеиновая кислота, 179P
- Олигодендроцит, 779P, 1042
- Олигоклональная реакция, 2370, *см. также* Иммунный ответ/система, приобретенный
- Олигонуклеотиды, аффинная хроматография, 658, 660P
- Олигосахарид-предшественник, 1132, 1132P, 1147P
- Олигосахариды, 85–86, 178P
 - модификация в ЭР, 1189P
 - модификация в аппарате Гольджи, 1185P, **1185–1189**, 1189P, 1189
 - присоединение сиаловой кислоты, 1187P
 - разнообразие боковых цепей, 980
 - сложные, 178P
- Олигосахариды, устойчивые к Endo H, 1189P
- Олигосахарилтрансфераза, 1132, 1132P, 1147P
- Онкоген(ы), 1699, 1886, *см. также* Рак, критичные гены; *отдельные гены/белки*
 - активация, 1699, 1886–1890, 1895–1897, 1900–1901
 - вирусные, 1887
 - избыточная экспрессия, 1894–1897
 - новые методы обнаружения, 1897
 - обнаружение, **1887**
- Онкогенез, ретровирусы, 1887
- Оогенез, 1970P, **1968–1972**, 1972, 1973P
- Оогоний, 1968, 1972, 1972P
- Ооциты, 1968, 1973P
 - *Drosophila*, оогоний, 1968, 1972, 1972P
 - асимметричное деление, 1970, 1970P
 - второго порядка, 1970, 1970P, 1975
 - мейоз, 1957, 1958, 1968, 1972, 1975

- механизмы достижения крупных размеров, 1972Р, 1972Р, **1972–1973**, 1973
- первого порядка, 1968, 1970Р, 1973Р, 1975
- развитие (оогенез), 1970Р, **1968–1972**, 1972, 1973Р
- созревание, 1968–1970, 1973Р, 1973Р, 1973–1975
- фолликулярные клетки и, 1972Р, 1973Р, 1972–1975
- хромосомы типа «ламповой щетки», 1968
- экспрессия генов, 1972
- Оператор, 667Р, 668, 668Р
- лямбда, 704–705
- Оперон, 667Р, **712–713**, 713, *см. также* *Lac-оперон (Escherichia coli)*
- Оплодотворение, 1982–1991, *см. также* *Зигота*
 - активация яйцеклетки и связывание сперматозоида, 1942Р, 1967, 1983Р, **1983**
 - акросомная реакция, 1982, **1983**, 1985Р
 - кортикальная реакция, 1985, 1986Р, **1986**
 - механизм слияния сперматозоида и яйцеклетки, **1983–1985**
 - повышение Ca^{2+} и активация яйцеклетки, 1515, 1515Р, **1985**
 - водные позвоночные, 1982
 - донируемые сперматозоидом центриоли, 1988Р, **1988**
 - зародыш *Xenopus*, 1626
 - капацитация и, 1978, **1982**
 - слияние пронуклеусов, 1988, 1988, 1989Р
 - формирование зиготы, 1941
 - экстракорпоральное оплодотворение (IVF) и связанные процедуры, **1988–1991**
 - капацитация, 1982
 - слияние пронуклеусов, 1989Р
- Опорные клетки, обонятельный эпителий, 2187, 2187Р
- Опосредованные Т-клетками иммунные реакции, **2363**
- Опсин, 2192
- Опсонизация, 2387, 2387Р, 2390Т
- Оптическая дифракция, 895
- Оптические срезы, 908Р, **908–911**, 911Р, 911, 911Р
- Оптический (лазерный) пинцет, 922, 922Р
- Опухоль, *см. Рак; конкретные типы, локализации*
- Органеллы, 1067–1069, *см. также конкретные органеллы*
 - мембраны, 1069Т
 - методы анализа, **786–791**, 791
 - митохондрии, *см. Митохондрии*
 - наследование, **1324–1326**, 1326
 - объем, 1068, 1069Т
 - положение, 1069
 - преобразование энергии, 1248, *см. также* *Хлоропласт(ы); Митохондрии*
 - развитие, 1079, 1082
 - топологические взаимоотношения, 1076Р
 - фосфоинозитиды, 1161
 - хлоропласты, *см. Хлоропласт(ы)*
 - цитокинез и, **1686**
 - эволюция, **1069–1074**, 1074, 1076Р
- Организатор (организационный центр Шпеманна), 2091, 2094
- Органическая химия, 68
- Органические молекулы (малые, клеточные), 85
 - аминокислоты, *см. Аминокислоты*
 - жирные кислоты, *см. Жирные кислоты*
 - как строительные блоки, 86Р
 - метаболизм, 85
 - нуклеотиды, *см. Нуклеотиды*
 - сахара, *см. Сахара*
 - скорость диффузии в клетке, 115–117
 - фотосинтетический синтез, 105–108
- Органогенез, **2058–2083**, 2083, *см. также* *Развитие; конкретные органы*
- Органотрофы, 18
- Ориджин репликации, *см. Точка начала репликации (ориджин)*
- Ортологи, 29Р, 29–31, 31Р
- «Ослабленное сканирование», 756
- Осмий, окрашивание при электронной микроскопии, 933
- Осмолярность, регуляция, 1020, 1022, 1022РР
- Основания (нуклеиновая кислота)
 - ДНК, 303Р, 303РР, 302–305
 - необычные, 462Р
 - обычные, 462Р
 - повреждение, 454, 454Р
 - таутомеры, 410–411, 413Р
 - РНК, 460
 - пиримидин, 95, 181Р

- пурин, *см.* Пуриновые основания
- спаривание, *см.* Спаривание оснований
- структура нуклеотидов, 95, 181Р
- Основания (химические соединения), 82, 174Р
- измерение, *см.* РН
- Основная паренхима, растения, 2144, 2146Р
- Основной комплекс гистосовместимости, *см.* МНС (основной комплекс гистосовместимости)
- Оспа, вирус, 2292, 2292Р
- Остаточное тельце (цитокinesis), 1679, 1679Р
- Остеобласты, 2231, 2247–2249, 2249Р, 2249
- клетки-предшественники, 2249Р
- клеточная линия и формирование, 2244Р
- перестройка кости, 2253Р
- синтез внеклеточного матрикса, 1808
- Остеогенные клетки, 2249Р
- Остеоид, 2247–2249, 2249Р, 2249, 2249Р
- Остеокласты, 2249, 2252, 2252Р
- перестройка кости, 2253Р
- ползание клеток, 1590
- эрозия кости, 2250
- эрозия хряща, 2252Р, 2252Р, 2252–2253
- Остеопетроз, 2255
- Остеопороз, 2255
- Остеоциты, 2249, 2249Р, 2252Р
- Островки Лангерганса, 2209, 2209Р, 2340Р
- Островки патогенности, 2283, 2283Р
- Осцилляции, *см.* Колебания
- Отбор РНК *in vitro*, 623Р, 627
- Отек, 2287
- летальный токсин, 2287
- Открытые рамки считывания (ORF), 756, 848
- «Отпечатки пальцев» ДНК, 841, 843Р
- Отрицательная обратная связь (ингибирование по типу обратной связи), 1514, 1514Р
- аллостерия, 258, 260Р, *см. также* Аллостерическая регуляция
- конформационное сопряжение, 258, 260Р
- многократное, 256Р, 258
- регуляция, 256Р, 258
- степень ингибирования, 260, 261Р
- транскрипционные цепи, 707, 707Р
- Отрицательная суперспирализация, 528Р, 530
- Отрицательный контроль трансляции, 753, 754Р
- Отслеживание предков, 378, 379Р
- Отстающая цепь, синтез (репликация ДНК), 410, 411Р, 416Р, 423Р
- заправки РНК, 416, 416Р
- лигирование, 416
- проблема концевой репликации, 448, *см. также* Теломераза
- фрагменты Оказаки, 409–410, 411Р, 416, 431Р
- эукариоты, 429, 431Р
- Отторжение трансплантата, 2420
- Отцовство, тест на, 843Р
- Очистка белков, *см. также* Анализ белков; Рекомбинантные белки
- вестерн-блоттинг, 801Р
- хроматография, 791–794, 796Р, 825Р
- электрофорез, 798, 800РР, 804–805, 805Р
- Очищающий отбор, 378
- Ошибки репликации, 411, 414–416, 423–425, *см. также* Исправление ошибок спаривания (mismatch-репарация)
- ПААГ, *см.* Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ)
- ПНК (пептидная нуклеиновая кислота), 618, 618Р
- ПЦР, *см.* Полимеразная цепная реакция
- Пазуха листа, 2155
- Пазушная почка, 2155, 2157Р
- Палеонтологические данные, сравнение филогенетических деревьев, 379
- Палочка (бацилла), форма бактерий, 2281Р
- Палочки (фоторецепторы палочек), 2191, 2192Р
- наружный сегмент, обновление, 2192, 2192Р
- обновление, 2192Р
- ответ на свет, 1515Р
- усиление сигнала в каскаде зрительной трансдукции, 1515, 1515Р
- Память, синаптическая пластичность, 2135
- Пандемия, вирус гриппа, 2331, 2333Р
- Панета клетка, 2199Р, 2199–2200, 2203, 2340Р
- Панкреатическая экзокринная клетка, органеллы, объем мембран, 1069Т
- Папаниколау мазок, рак шейки матки, 1859
- Папилломавирусы, 1881, 1881Р

- нарушение контроля клеточного цикла, 1910–1911
- онкогены (*E6* и *E7*), 1910, 1911P
- роль в раке, 1881T, 1910
- Папилломы, 1878–1880
- Папилломы человека, вирус, рак шейки матки, 2297
- Паразиты
 - внутриклеточные, проникновение в клетки хозяина, **2311–2316**, 2316
 - паразитические черви, 2280
 - простейшие, **2288–2290**, 2290
- Паракортекс, лимфатический узел, 2379, 2381P
- Паракриная сигнализация, **1350**, 1352P, 1354
- Параллельный транспорт, плотные контакты, 1769
- Паралоги, 29P, 29–31, 31P
- Парасегменты, *Drosophila*, 2033
- Паратиреоидный гормон, 1514T
- Парвовирусы, 2292, 2292P
- Паротит, вирус, 2292P
- Партеногенез, 1967
- Пассивный транспорт, 1007, 1009P
- Патоген(ы), **2274–2357**, 2357, **2361**, *см. также* Бактерии; Грибы; Паразиты; Простейшие; Вирус(ы)
 - взаимодействие с хозяином, 2275–2277
 - внутриклеточные, *см.* Внутриклеточные патогены
 - избегание систем защиты хозяина, **2301–2304**, 2304
 - изменение мембранного транспорта хозяина, **2316–2320**, 2320
 - изменение поведения хозяина, 2326
 - иммунные реакции хозяина, признаки/симптомы, 2277–2278
 - иммунный ответ на, *см.* Иммунный ответ/система
 - инфекции, *см.* Инфекции
 - колонизация хозяина, 2300–2301
 - мембраны клетки хозяина и, 2316P, **2316–2320**, 2320
 - облигатные, бактериальные, 2281–2283
 - первичные, 2275–2277
 - повреждение тканей, 2278
 - процесс заражения, 2300–2301
 - распознавание клетками хозяина, **2340–2343**, 2343
 - распространение, изменение поведения хозяина, 2326
 - *ср.* непатогенные организмы, 2285P
 - требования для размножения в хозяине, 2277
 - условные, 2281
 - устойчивые к лекарствам, 2331–2338
 - фагоцитоз, **2348–2350**, 2350
 - факультативные, 2281
 - филогенетическое разнообразие, 2278–2280
 - цитоскелет хозяина и, **2320–2324**, 2324
 - эволюция (быстрая), **2329–2331**, 2331
 - эволюция человека, влияние на, 2277
- Патоген-ассоциированные иммуностимуляторы, 2340, 2341, **2361**
- Паттерн-распознающие рецепторы, 2341, 2364–2365
 - Toll-подобные белки, **2346–2348**, 2348
 - дендритные клетки, 2355, 2413
 - узнавание патогена фагоцитами, 2348
- Пахитена, 1950
- Пейтца-Егерса синдром, 1775
- Пектины, клеточная стенка растений, 1835, 1835P, 1837T
- Пенистые клетки, 2299, 2299P
- Пеницилин, 2331–2333
- Пентозы, 177P
- Пептид-МНС комплекс, 2424P, 2423–2425, 2425P, 2427P, *см. также* МНС (главный комплекс гистосовместимости)
- Пептид-связывающая бороздка, белок МНС, 2423, 2424, 2425P
- Пептидил-тРНК, связывание с рибосомой, 575, 575P
- Пептидилтрансфераза, 576, 582, 582P, 626
- Пептидная нуклеиновая кислота (ПНК, PNA), 618, 618P
- Пептидные связи, 91, 93P
 - гидролиз, 242
 - образование, 194P, 626
 - углы связей, стерические ограничения, 192P
- Пептидные фрагменты, иммунная реакция, **2428–2434**, 2434

- Пептидов переносчики, связывание МНС класса I, 2430, 2430P
- Пептидогликаны, бактериальная клеточная стенка, 2281P, 2341
- Первичная иммунная реакция, **2372**, *см. также* Иммунный ответ/система, приобретенный
- Первичная иммунная реакция антителогенеза, 2372P, *см. также* Иммунный ответ/система, приобретенный
- Первичная ресничка, 1514
- Первичные антитела, иммунофлуоресцентная микроскопия, 905
- Первичные клеточные стенки, 1831, **1834–1835**, 1835P
- Первичные культуры, 779
- Первичные патогены, 2275–2277
- Первичные половые клетки (ППК), **1960–1965**
- миграция в развивающиеся половые железы, 1961P, **1961**, 1964, 1968
 - определение за счет детерминанты клеток зародышевой линии, 1960, 1960P
 - определение за счет сигналов соседних клеток у млекопитающих, **1960–1961**
 - плюрипотентность, 1961
- Первичный (примордиальный) фолликул, 1973, 1973P
- Первичный лимфоидный орган, *см.* Центральный лимфоидный орган
- Первичный репертуар антител, 2398
- Передачики сигнала, 1365
- Передача информации, *см. также* Наследование
- количественное описание, 1
 - молекулы
 - ДНК, *см.* ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота)
 - РНК, *см.* РНК (рибонуклеиновая кислота)
 - происхождение жизни, 618P, 617–620
 - определяющее свойство живого, 1
 - энергетика, 10
- Передача сигнала (сигнальная трансдукция)
- G-белки, *см.* G-белки (тримерные GTP-связывающие белки/АТФазы)
 - NF κ B, Toll-подобные рецепторы, 2346
 - адаптация (десенсбилизация), **1514**, 1515, 1515P
 - суперсемейство ядерных рецепторов, 1363P, **1363–1365**, 1365P
 - фоторецепторы, растительные фотобелки, **1519**, 1519P
 - циклический AMP, **1514–1515**
- Передне-задняя ось, развитие
- *Drosophila*, 2034P, 2036P, 2034–2039, 2039P
 - роль гомеозисных селекторных генов, 2051P, 2052P, 2050–2058
 - позвоночные
 - зародыши земноводных, 2088
 - роль гомеозисных селекторных генов, 2051P, **2053–2058**, 2058P
- Переключающая спираль, GTP-связывающие белки, 275
- Переключающие последовательности, переключение класса, 2408
- Переключение класса, **2406–2408**
- активация В-клеток, 743–744
 - *ср.* V(D)J рекомбинация, 2408
- Переключение типа спаривания, 701–702, 702P, 704, 705P, *см. также* Конверсия генов; Сайленсинг генов
- Перекрест, формирование, 1948, 1951, 1951P, 2100P
- Перенос ДНК, *см.* Горизонтальный перенос ДНК
- Перенос геля, *см.* Блоттинг
- Переносчик глюкозы, трансцитоз, 1225
- Переносчики фосфолипидов, 1143
- Переопределение пола, мышцы, 1962
- Пересечение, предотвращение между MAP-киназами, **1516**
- Перестройка синапсов, 2131
- Перестройка хроматина, 330–331, 680–682, 682P
- РНК-интерференция (RNAi), 682
 - РНК-полимеразы, 667
 - «барьерные последовательности», 347–349
 - белок-«писатель» кода, 346–347, 347P, 349P
 - гистоны, 331, 331P, 665, 667P
 - комплексы, 330, 330P, 527, 528
 - мозаичный эффект положения, 346–347

- нуклеосомы, 331, 665, 667P
- транскрипционная, опосредованная репрессорными белками, 685, 687P
- Перестройки ДНК, *см. также* Рекомбинация; конкретные перестройки
 - бактериальная фазовая вариация, 699–701, 701P
 - консервативная сайт-специфическая рекомбинация, 10000
 - наследуемая, **497–498**
 - обратимая, 495P, **495**
- Перетасовка сегментов ДНК, 28, 28P
- Перехваты Ранвье, 1045, 1045P
- Переход к средней бластуле, 2086
- Переход от метафазы к анафазе, 1632, 1639, 1646, 1670
- Переходное состояние, 241
 - аналоги, 241, 242P
 - стабилизация, ферментативный катализ, 239–241, 247
 - энергия активации, 241, 241P
- Переходные эндоплазматический ретикулум, *см.* Эндоплазматический ретикулум (ЭР), гладкий
- Перинуклеарное пространство, 1083P
- Период полураспада, радиоизотопы, 925, 925T
- Периодическая таблица элементов, 75P
- Периплазматическое пространство, 2281P
- Перитонит, 2275
- Периферическая толерантность, 2437–2439
- Периферические лимфоидные органы, 2364P, 2367, 2367P
- Перицентриолярный матрикс, 1652
- Перицит, 2212P, 2219
- Перлекан, 1788, 1789, 1791P, 1815P
- Пермеазы, *см.* Белки-переносчики
- Пероксид водорода, пероксисомы, 1107
- Пероксин, импорт белков в пероксисомы, 1109
- Пероксисомы, *см. также* Глиоксисома
 - β -окисление, 1109
 - импорт белков, **1107–1111**, 1111
 - импорт фосфолипидов из ЭР, **1143**
 - образование, 1111P
 - объем, 1069P
 - объем мембраны, 1069T
 - окислительные реакции, **1107–1109**, 1109
- пероксид водорода, 1107
- плазмалогены, 1107
- структура, 1107
- ферменты, 1107
- функции, 1068, 1107–1109
- электронная микрофотография, 1107P, 1111P
- Перфорин, 2417P, **2417**
- Петлеобразование ДНК, 673, 674P
 - регуляция транскрипции, 674, 674P, 741–742
- Печень, **2207–2209**
 - клетки, *см.* Гепатоцит(ы)
 - рак, 1880–1881, 1883
 - структура, 2208P
- Пигментная ксеродерма, 453T, 1853
- Пигментные клетки, рыбы, 1569–1570, 1570P, 1570, 1570P
- Пили (фимбрии), 2281P
- Пилин белок, *Neisseria*, 2329
- Пиноцитоз, 1208, 1211P, **1211–1213**, 1213
- Пиранозил-РНК (p-РНК), 618P
- Пиримидиновые основания, 95, 181P, *см. также* Цитозин; Тимин; Урацил
- Пирофосфат, высвобождение при синтезе ДНК, 410P
- Пируват
 - анаэробное расщепление, 140–142, 142P
 - гликолиз, 139, 140P, 186P
 - окисление до ацетилкофермента А, 151, 151P
 - транспорт, 1264
 - цикл лимонной кислоты, 177P
- Пируватдегидрогеназа, 151, 151P
- Пируватдекарбоксилаза, 151P
- Пируваткарбоксилаза, использование биотина, 133P
- Пируваткиназа, 186P
- Пищеварение, 139, 2197, *см. также* Лизосома/ы
- Пищевые молекулы
 - запасание, **143, 148–149**
 - неспособные к брожению, эволюция способности использовать, 1336
 - получение энергии, 157P, **139–162**, *см. также* Катаболизм
- Пищевые требования, азот, 158
- Плавление ДНК, 828P

- Плазмалогены, 1107, 1109P
- Плазматическая мембрана, **12**, 953, *см. также* Мембрана/ы
- выпячивание за счет полимеризации актина, **1591–1594**, 1594
 - липиды, *см.* Липидный бислой
 - нуклеация актиновых филаментов, **1527–1530**, 1530
 - области мембраны, плотные контакты, 1768
 - происхождение, 623–624, 626, 627P
 - протеогликаны, 1814–1815
 - разрастание, регулируемый секреторный путь (экзоцитоз), 1236, 1237P
 - связь актиновых филаментов, **1548–1550**, 1550P, 1550, 1550P
 - универсальность, **12–14**, 14
- Плазматические клетки (эффektorные В-клетки), 2367, 2368P, 2373, 2382, *см. также* В-клетки
- Плазмиды, 31, 833–834, 834PP, 834, 2283P, 2283–2285, 2285P, 2285
- Плазмин, 1829
- Плазминоген, 1829
- активаторы, 1829
- Плазмодесмы, 1778, **1784–1785**, 1785P, 1785
- Плакоглобин (γ -катенин), связывание кадгеринов, 1755
- Плакоды, 2116P
- Пластиды, 1068, **1292–1293**, 1293
- амилопласты, 1292, 1292P
 - геномы, 1312–1314
 - лейкопласты, 1292
 - развитие, 1073, 1074P, 1292
 - разнообразие, 1292P
 - рост и деление, 1315–1317
 - хлоропласты, *см.* Хлоропласт(ы)
 - эволюция, 1074
 - этиопласты, 1292
- Пластохинон, 1308P
- Пластоцианин, 1308P
- Плацента, 2108
- Плектин, 1525P, 1542, 1543P
- Плоидность, изменение, 55–56, 56P, 56, 390, 1704, 1704P, 1706P
- Плоскостная полярность клеток, 1776P, **1776–1778**, 1778, 2074, 2076, 2077P
- Плотные контакты, **1767–1778**
- как непроницаемые барьеры, 1768–1769, 1769P
 - параллельный транспорт, 1769
 - скэффолд белки, **1771–1773**
 - соединительные комплексы, 1772P, **1771–1773**
 - структура, 1769P, 1769–1771, 1771P
 - трансмембранные белки адгезии, 1771
 - трансэпителиальный перенос, 1768, 1768P
 - функции, **1767–1771**
 - эпителиальные клетки, 1237, 1741, 1742P, 1767–1768
- Плюрипотентная кроветворная стволовая клетка, происхождение лимфоцитов, 2367
- Побег, апикальная меристема, 1785, 2143P, 2152PP, 2154–2155, 2157P
- Поведение хозяина, изменение для ускорения распространения патогена, 2326
- Поведенческие мутанты, 855, 856P
- Поверхностные рецепторы клеток, 1368P, 1370P, **1365–1371**, 1517P, *см. также отдельные типы*
- в NF κ B-зависимом пути (семейство Toll), 2346
 - сопряженные с G-белками, *см.* Рецепторы, сопряженные с G-белками (GPCR)
 - сопряженные с ионными каналами, *см.* Ионные каналы
 - сопряженные с ферментами, 1518, 1519P
 - *ср.* внутриклеточные рецепторы, 1350, 1350P
 - у растений, **1518–1519**
- Поверхностный плазмонный резонанс (SPR), 810P, **810–811**
- Повреждение ДНК, 454, 454P, 456P, *см. также* Репарация ДНК
- ATM/ATR сигнальный путь, 1696
 - агенты, *см.* ДНК-повреждающие агенты
 - апоптоз, 1697, 1716
 - клеточный цикл и, 490–505
 - контрольные точки, 490, 1697P, **1696–1699**
 - массивные повреждения, 457
 - невозможность репарации, 1697, *см. также* Рак; Мутация/и
 - поперечные сшивки, 454, 456P
 - рак и, 1864–1866, **1877**, 1907, *см. также* Карциногены; Мутация/и

- репарация, см. Репарация ДНК
- репликация, 454, 457Р, см. также Мутация/и
- спонтанные модификации, 454, 454Р, см. также конкретные типы
- Повторы ДНК, см. также Транспозон(ы); конкретные типы
- STD РНК-полимеразы II, 531
- генетические маркеры, VNTR, 843Р
- индуцированная повторами рекомбинация, 482Р
- короткие tandemные повторы, гипервариабельные микросателлитные последовательности, 843Р
- теломерные последовательности, 322, 448
- центромерные последовательности, 322–324
- человеческий геном, 318Р, 494Р
- Погрузчик (установщик) зажима, 419, 421Р, 423Р
- Подавление иммунитета, туберкулез, 2278
- Подвесок, 2143, 2143, 2144Р
- Подвижность/движение клеток
- в развитии животных, 2083–2107, см. также Миграция клеток; Развитие
- вклад миозина II, 1594Р
- выпячивания, 1591–1593, 1594Р
- микроскопия, 898
- натяжение, 1596–1598, 1598Р
- ползание, см. Ползание клеток
- посредством полимеризации актина, **1591–1594**
- Поддерживающая метилтрансфераза, метилирование ДНК, 721
- Поджелудочная железа, 2209
- Подкожный слой (гиподерма), 2169, 2169Р
- Позвоночные
- время эволюционной дивергенции, 63Р
- развитие, см. Позвоночные, развитие
- Позвоночные, развитие, **2083–2107**, см. также конкретные процессы и виды
- *Xenopus laevis*, см. *Xenopus laevis* развитие
- кадгерин(ы), 1751Р, 1749–1753, 1753Р, см. также Кадгерин(ы)
- мышцы, см. Мыши развитие
- нервный гребень, 1751, 1751Р
- перемещения клеток и формирование тела, **2083–2107**, см. также *Xenopus laevis* развитие
- асимметрии яиц змноводных, 2084, 2084Р
- бластула, 2083Р, 2086, 2088
- гастрюляция, 2088Р, 2090Р, **2086–2093**
- дробление, 2086, 2086Р
- клеточная адгезия и сортировка, 2093–2094, 2094Р
- конвергентное растяжение, 2091–2093, 2093Р
- лево-правая асимметрия, 2104Р, **2104–2105**
- миграция миобластов, 2099–2100, 2100Р
- мигрирующие клетки, 2099–2102
- нейруляция, 2094Р, 2094–2096, 2097Р
- нервный гребень, 2100Р, **2100**
- переход к средней бластуле, 2086
- пигментные клетки, 2102, 2104Р
- формирование сомитов, **2096–2097**, 2097Р
- хорда, **2094–2096**
- формирование нервной трубки, 1751, 1753Р
- Поздние гены, эффект конденсации хроматина, 438–440
- Позитивная селекция, в тимусе, **2434–2436**, 2436Р, 2436, 2436, 2437Р
- Позиционная информация, имагинальные диски, 2064
- Позиционные значения, **2005–2007**, 2007, 2129–2131
- Позиционные эффекты, 338, 338Р
- Покровная мембрана, 2188, 2188, 2189Р
- Пол, определение, **1960–1965**, см. также Первичные половые клетки (ППК)
- *Drosophila melanogaster*, 742Р, 742–743, 743Р
- видовые различия, 1965
- развитие половых желез, 1961Р, **1961–1964**, 1965Р
- Ползание клеток, 1543, 1546, 1590Р, **1590**, см. также Подвижность/движение клеток
- ведущий край, 1596Р
- действия в процессе, 1590

- Поли А-«хвосты», *см.* Полиаденилирование (3'-конец мРНК)
- Поли-А-полимераза, 548Р, 550
- Поли-А-связывающий белок, 563Р
- Полиаденилирование (3'-конец мРНК), 531, 548Р, 548–550
- 3'-конец матричной РНК, 548Р, 548Р, 548–550
 - CPSF белок, 548Р, 548–550
 - CstF белок, 548Р, 548–550
 - деаденилирование-связанное разрушение ДНК, 759, 759Р
 - неретровирусные транспозоны, 486Т
 - нонсенс-опосредованный распад мРНК, 593
 - поли-А-полимераза, 548Р, 550
 - поли-А-связывающий белок, 548Р
 - посттранскрипционная регуляция генов, 568–569, 570Р
 - цитоплазматическое, **760**
- Полиакриламид, 798
- Полибелки, 1233
- Поливалентные антигены, 2390
- Полигенные признаки, 865
- Полиизопреноиды, 180Р
- Поликлональная реакция, 2370, *см. также* Иммунный ответ/система; Иммуноглобулин(ы)
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР), 840Р, **839–841**, 841Р, 841, 843Р
- Полимеразы, *см. также* Репликация ДНК; *конкретные ферменты*
- ДНК, *см.* ДНК-полимеразы; Репликация ДНК
 - РНК, *см.* РНК-полимеразы
 - термофильные, 839
- Полимеризация, *см. также* Макромолекулы
- ДНК, *см.* Репликация ДНК
 - актина, *см.* Полимеризация актина
 - полимеризация «с головы», 136, 137Р, 572
 - полимеризация «с хвоста», 136, 137Р
 - энергетика, **133–137**, 137
- Полимеризация актина
- временная зависимость, 1520Р
 - выпячивание плазматической мембраны, **1591–1593**, 1594Р
 - гидролиз нуклеотидов, 1520
 - движение бактерий внутри клетки, 2321Р, 2321–2323, 2323Р
 - нуклеация, 1520Р
 - индуцируемый патогенном механизмом, 2323, 2323Р
 - ламеллоподия, 1527
 - модель выпячивания при клеточном движении, 1591–1593, 1594Р
 - регуляция, **1527–1530**
 - роль комплекса APR, 1529Р
 - у плазматической мембраны, **1527–1530**
 - процесс проникновения бактерии, 2311, 2313Р
 - скорость, 1520, 1520Р
 - субъединицы, 1520
 - толкающая сила, 1594
- Полиморфизм, белки МНС, 2420, 2439
- Полиморфоядерные лейкоциты, *см.* Нейтрофилы
- Полинуклеотиды, *см. также* Нуклеиновые кислоты
- ДНК, *см.* ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота)
 - РНК, *см.* РНК (рибонуклеиновая кислота)
 - происхождение жизни, 617, *см. также* Гипотеза мира РНК
 - свойства, 617
- Полиовирус, 2292Р, 2318–2320, 2321Р
- капсид, 225Р
 - отключение транскрипции клетки хозяина, 2324
 - проникновение и декапсидация, 2308Р, 2310
 - расщепление TFIID, 2324
 - структура, 2280Р
- Полиомиелит, искоренение вакцинацией, 2295Р
- Полипептидная основная цепь, модель белка, 200Р
- Полипептиды, *см.* Белки
- Полирибосомы, **586–587**, 587Р, 587, 1118, 1121, *см. также* Рибосомы
- Полисахариды, 86, 178Р
- биосинтез, 134, 134Р
 - клеточные макромолекулы, 96Р
 - переваривание, 139Р, 247–249
- Полиспермия, 1986

- Политенные хромосомы, **361–364**, 364, *см. также* Хромосомные пуфы
- *Drosophila melanogaster*, 55, 55Р, 361–363, 363РР, 363, 364, *см. также* Структура хромосом
 - микрокопия, 908Р
 - модификация гистонов, 364Р
 - обратная свертка, 908Р
 - связывание инсультаторов, 636, 697Р
 - экспрессия генов, 337–340
 - визуализация, 361
 - синтез РНК, 365Р
 - хромосомные пуфы, 337–340
- Полиубиквитинирование, 1220
- Полицистронная мРНК, 584
- Половое размножение, 1941–1993
- видовые различия, **1964–1965**
 - различия стратегий, 1960
 - горизонтальный перенос генов, **32**
 - обзор, 1941–1946
 - оплодотворение, *см.* Оплодотворение
 - определение пола, *см.* Пол, определение
 - развитие клеточной линии, *см.* Первичные половые клетки (ППК)
 - *ср.* гаплоидные и диплоидные клетки, 1942Р, **1941–1944**
 - формирование гамет, 1674, 1941, **1946–1948**, *см. также* Яйцеклетка (яйцо); Мейоз; Сперматозоиды
 - эволюционная перспектива
 - генетическое разнообразие, **1944**, 1956Р, **1956–1957**
 - конкурентное преимущество, 1944Р, **1944–1946**
- Половое созревание, 1968–1970, 1975, 1977
- Половой гормон, 1364
- Половые гормоны, влияние на риск заболевания раком, 1883, *см. также конкретные гормоны*
- Половые различия, регуляция мейоза, **1957–1958**
- Половые хромосомы, 310, 730, 852Р, *см. также* X-хромосома; Y-хромосома
- конъюгация в мейозе, 1950
 - определение пола и, 1944, 1962Р
- Положительная обратная связь, 1514, 1514Р
- асимметрия клеток, 2009–2010
 - клеточная память, 705, 705Р, 719
 - конформационное сопряжение, 258, 260Р
 - транскрипционные цепи, 707, 707Р
 - эпигенетика, 726, 728Р
- Положительная суперспирализация, 528Р, 530
- Полудесмосомы, 1742, 1742Р, 1744Т, 1795, 1796Р
- кератиновые филаменты, 1521
 - прикрепление промежуточных филаментов, 1758Р, 1796Р
- Полуконсервативная репликация ДНК, 408, 408Р
- Полусный ток, 1588, 1588Р
- Полярная выталкивающая сила, 1666, 1668Р
- Полярное тельце, 1970, 1970Р
- Полярное тельце веретена деления, 1523
- Полярность сегментов, гены, 2037, 2045Р, 2046
- Полярность яйцеклетки, гены (*Drosophila*), 2036Р, 2039Р, **2036–2040**
- Полярность/поляризация, 1599
- *Saccharomyces cerevisiae*, 1603
 - Т-клетки, 1607, 2417
 - в развитии, 2084, *см. также Drosophila*, развитие
 - кинетохор, 1651–1652, 1652Р, 1652
 - митотическое веретено деления, **1653–1655**, 1655, **1659–1661**, 1661
 - нейтрофилы, 1604Р, 1606Р
 - почкование дрожжей, 1348, 1603, 1604Р
 - регуляция экзоцитоза, 1236–1237
 - ткани, 1773
 - цепей ДНК, 3Р
 - цитоскелет и, 1520, 1603, **1606**
 - эпителий
 - механизмы апикально-базальной полярности, 1773Р, 1773Р, 1775Р, **1773–1776**, 1776
 - механизмы плоскостной полярности клеток, 1776Р, 1776Р, **1776–1778**, 1778
 - эпителиальные клетки, **1225**, 1226Р, 1237Р
- Полярные ковалентные связи, 77, 78Р
- Полярные молекулы, 80–82
- Поперечные сшивки ДНК, 453Т, 454, 456Р
- Поперечные филаменты, конъюгация гомологов в мейозе, 1951, 1953Р

- Порины, 217P, 979, 1027, 1086, 1086P, 1101, 1101P
- Поровые поля, 1784
- Порфириновые кольца, гемы, 1276P, 1277
- Последовательная индукция, **2016–2017**, *см. также Drosophila* развитие
- Последовательности рекомбинационных сигналов, соединение V(D)J, 2401P
- Последовательность ДНК, 305–307
- бактериальная, как иммуностимулятор, 2341
 - изменения в процессе эволюции генома, 376–378
 - методы анализа, *см. Секвенирование ДНК*
 - структурные эффекты, 640–642
 - узнавание, 644T, 644–645, *см. также ДНК-связывающие мотивы (белковые)*
 - человеческий ген β -глобина, 305P, 307P
 - эволюционный консерватизм, 318, 319P, 382
- Последовательность клеточных поколений, *Caenorhabditis elegans*, 2020, 2020P
- Посткапиллярная вена, 2377, 2377P, 2381P
- Постсинаптический потенциал (PSP), 1058P
- Посттрансляционная регуляция, 736P, **736–771**, 771
- альтернативный сплайсинг, **739–741**, 741
 - гены иммуноглобулинов, 568, 743–744
 - контроль локализации РНК, 638, 638P
 - контроль процессинга РНК, 638, 638P, **747–749**, 749, *см. также Сплайсинг*
 - контроль транспорта РНК, 638, 638P, **747–749**, 749
 - полиаденилирование мРНК, 568–569, 570P
 - трансляционная, *см. Трансляционный контроль экспрессии генов*
- Посттрансляционные модификации, 597P
- ван-дер-ваальсово притяжение, *см. Ван-дер-ваальсовы силы*
 - ионные связи, *см. Ионные связи*
 - ковалентные, 597P, *см. также Гликозилирование белков; Фосфорилирование белков*
 - коллагены, **1818**, 1820P
 - макромолекулы, 85P, 99, 99P, 191–192, 235, 238P
 - нековалентные, 597P, *см. также конкретные модификации*
 - регуляция функций, 283T, **283–285**, 285
 - слабые взаимодействия, 175P
 - эластин, 1824
- Потенциал действия, 1044PP
- запись, 1044P
 - запуск, 1058
 - определение, 1040
 - постсинаптический потенциал, 1058P
 - распространение, 1041, 1041P
 - сальтаторное (скачущее) проведение, 1045
 - схема, 1040P
 - фиксация напряжения, 1044, 1044P
 - эксперименты на гигантском аксоне кальмара, 1042, 1044, 1044P
- Потенциал-зависимые ионные каналы, **1040–1042**, *см. также конкретные типы*
- Потенциал-зависимые калиевые каналы, 1041
- инактивация, модель «шарика на нитке», 1042P
 - медленные, 1042, 1058
 - мутанты, 1042
 - эволюционное родство, **1049**
 - эпилепсия, 1049
- Потенциал-зависимые кальциевые каналы, **1049**, **1056–1057**
- Потенциал-зависимые натриевые каналы
- механизм инактивации, 1040
 - нервно-мышечные соединения, 1056
 - состояния, 1040–1041
- Потеря гетерозиготности, 480, 1893
- Потеря флуоресценции при фотоотбеливании (FLIP), 990, 991P, 1157P
- Почесуха, 611–612, 2295
- Почечные каналцы, 2207
- Почечный клубочек, базальная мембрана, 1787P, 1787–1788, 1791
- Почки конечностей (позвоночные), 2070P, 2100P
- Почкование дрожжей
- полярность клеток, 1348, 1603, 1604P
 - сигнальный путь, 1348, 1603, 1604P
 - типы спаривания, 1603
- Почкующиеся дрожжи, 48P, *см. также Saccharomyces cerevisiae*

- альтернативный сплайсинг, 739–741
- геном, 27Т
- как модельные эукариоты, 47–48
- определение типа клеток, 702Р, **701–704**, 704Р, *см. также* Переключение типа спаривания
- репродуктивные циклы, 636Р
- *ср. E. coli*, 48
- *ср.* гаплоидное и диплоидное состояния, 48
- точки начала репликации, 440, 442Р
- Поясок сцепления (адгезионный пояс), 1755, 1756Р
- Правило N-конца, *см.* N-концевая деградация
- Праймаза, *см.* ДНК-праймазы
- Праймер (заправочная цепь), синтез ДНК, 1968, 1970Р
- Пре-В-клетки, **2384**
- Пре-мРНК, модификация
 - кэпирование, *см.* 5'-Кэпирование эукариотической мРНК
 - полиаденилирование, *см.* Полиаденилирование (3'-конец мРНК)
 - сплайсинг, *см.* Сплайсинг
 - упаковка hnРНК, 542Р, 550
- Пре-про-белки, 1233
- Пред-РНК мир, происхождение жизни, 618–620
- Предопределенность клеток, 2004–2005, 2005Р
 - комбинаторный контроль, 717–719
- Предранние гены, 1516
- Предсомитная мезодерма, 2096
- Преждевременное старение, дефекты репарации ДНК, 453Т
- Презентация антигена, **2442–2443**
 - CD28, 2442
 - белки В7, 2442
 - кросспрезентация, **2433**
 - *ср.* цитотоксические и хелперные Т-клетки, 2433–2434
- Преинициаторный комплекс, 1640
- Преобразователи, 2187
- Пререпликативный комплекс (pre-RC), 1640–1642, 1642Р
- Пререпликационный комплекс, 444
- Пресенилин, 1518
- Придатки, развитие, **2058–2083**, *см. также конкретные конечности*
 - насекомые, 2058–2081
 - позвоночные, 2070–2071
 - тонкие детали распределения, 2071–2074, 2081
- Придаток семенника, 1978
- Прижимной электрод, 813
- Прикрепляющий контакт, 1740, 1740Р, 1741Т, 1744Т, 1741–1767, *см. также* Кадгерин(ы); Интегрин(ы); *конкретные типы*
- Приматы, эволюционные отношения, 378, 378, 379Р
- Приобретенная иммунологическая толерантность, **2373**, *см. также* Иммунологическая толерантность
- Приобретенный иммунный ответ, *см.* Иммунный ответ/система, приобретенный
- Прионные белки (PrP), 2280, **2295–2297**
 - грибы, 612
 - инфекционность, 611–612
 - конформационные изменения, 611Р, 612
 - неправильное сворачивание/агрегация, 611–612
 - нормальный клеточный PrP, 611–612
 - положительные роли в клетке, 612
 - разрушение нервной ткани, 2295, 2297Р
 - репликация, 2295
 - структура и агрегация, 2295–2297
- Прионные заболевания, 611Р, 611–612
- Приспособляемость (эволюционная), половое размножение и, 1944, 1944Р
- «Проблема закручивания», репликация ДНК, 426Р
- «Проблема кодирования», 563
- Программируемая клеточная смерть, *см.* Апоптоз (программируемая клеточная смерть)
- Проинсулин, 228, 230Р
- Происхождение жизни, **616–627**, 627, *см. также* Эволюция
 - ДНК как наследственный материал, 627
 - временная шкала, основные события, 1338Р
 - липидные бислои, 623–624
 - мир РНК, *см.* Гипотеза мира РНК
 - мир пред-РНК, 618Р, 618–620

- самореплицирующиеся молекулы, *см. также* Каталитическая РНК
- естественный отбор, 621–624
- полинуклеотиды, 617–618
- полипептиды, 617
- требование автокатализа, 617
- синтез белков, 626–627
- эволюция электрон-транспортной цепи, 1335–1336, **1336–1340**, 1340
- Проказа, 2446–2448
- Прокариоты, **21**, *см. также* Археи (археобактерии); Бактерии
- инициация трансляции, 2341
- клетки, 21Р, 21–23, 23Р
- метилирование ДНК, *см.* Метилирование ДНК
- направляемое цепью исправление ошибок спаривания, 425
- разнообразие, 23
- синтез белков, 530Р, 584
- экспрессия генов, 530Р
- мРНК, 531Р, 584, 586Р, 753
- репрессоры, *см.* Репрессорные белки
- транскрипционный контроль, *ср.* эукариоты, 668–671
- транскрипция, *см.* Транскрипция
- Прокаспаза, 1717, 1719, 1720Р, 1722, 2417Р, 2418
- Прокollaген, 1818, **1820**
- Пролин, 195Р, 1820, 1820Р
- Пролиферация клеток, 1620, *см. также* Клеточный цикл; Деление клеток; Рост клеток; Репликативное старение клеток
- зависимость от прикрепления, 1802Р, 1802–1803
- зависящее от плотности ингибирование (контактное ингибирование), 1703, 1703Р
- интегрин и, **1802–1803**
- контроль общей массы клеток, **1704–1706**
- координация роста и деления клеток, **1700–1703**
- ограничения, длина теломер, 449
- патологические сигналы, остановка клеточного цикла, **1699–1700**
- раковые клетки, **1699–1700**, 1866, *см. также* Рак
- белки онкогенных ДНК-вирусов, 1910, 1911Р
- скэффолд-белки и соединительные комплексы, **1771–1773**
- требования, 1904, 1905Р
- Промежуточные филаменты
- динамическое поведение, 1519
- изоформы, 1521
- кератины, *см.* Кератин(ы)
- латеральное связывание и закручивание двойных спиралей, 1521, 1521РР
- локализация в клетке, 1519
- механическая стабильность, **1521**
- организация, **1542–1543**
- полипептидная структура, 1521
- прикрепляющие соединения, 1741Т, 1742, 1756, 1758, 1758Р, 1796Р
- распространенность, 1521
- роль в делении клеток, 1519
- сборка, 218, 1521, 1521Р
- свойства, 1519
- структура, 1519, 1519Р, 1521Р
- субъединицы, 1520
- удлинённые, 1520Р
- Промежуточный компартмент, *см.* Цис-сеть Гольджи (ЦСГ)
- Прометафаза, 1648Р, 1658, 1668
- Промоторные элементы, 516, 519–520
- асимметрия, 520, 520Р
- бактериальные, 53Р, 516–517, 519Р, 519–520
- эукариотические, 677
- CG (СрG) островки, 668, 725–726
- консенсусные последовательности, 520
- объединение сигналов транскрипции, 691–693, 693Р
- Промоторы канцерогенеза, 1878, 1880
- Промоторы, индуцируемые, 867
- Пронуклеусы, слияние, 1988, 1988, 1989Р
- Пропептиды, 1233
- Пропластиды, 1073, 1292
- Прорастание, запас энергии, 149
- Проросток, 2145
- мутанты *Arabidopsis*, 2145Р
- Простейшие, 40Р, 45–47
- как паразиты, **2288–2290**, **2311–2316**
- Простой герпес, вирус, 2277–2278, 2292
- ингибирование транслокации белков МНС класса I, 2354–2355
- рецепторы, 2306

- Простуда, 2326
- Протеазы, 1814, 1829, 1829P, *см. также*
Протеасомы
- ингибиторы, регуляция, 1814
- Протеасомы, 603P, **602–606**, *см. также*
Убиквитиновый путь
- деградация неправильно свернутых белков, 1136P
 - контроль качества белков, **602–605**, 1177
 - процессивность протеолиза, 603, 603P
 - процессинг/презентация антигена, 2430, 2431P
 - структура, 603P, 603–605
- Протеиндисульфидизомераза (PDI), 1131
- Протеинкиназа В (Akt, PKB), 1517, 1904
- Протеинкиназа С (PKC), 281, 965, 1515
- Протеинкиназы, 266–269, **1371**, *см. также конкретные ферменты*
- гомология последовательностей, 266, 267P
 - инактивация Cdk, 1635–1636, 1636P, 1639T
 - регуляция, «микрочипы», 267P, 267–269, 271P
 - структура, 212, 266P
 - тирозинкиназы, *см.* Тирозинкиназы
 - эволюция, 266, 267P
- Протеинфосфатазы, 266P, 266–267, **1371**
- активация Cdk, 1635, 1635P, 1639T, **1650–1651**
 - кэпирование 5'-мРНК, 531, 533P
 - тирозинфосфатазы, **1517**
- Протеогликаны, 1815T, *см. также конкретные типы*
- базальная мембрана, 1788
 - как молекулярные фильтры, 1813–1814
 - комплексы, 1813, 1813, 1814P
 - корцепторы на поверхности клетки, **1814–1815**
 - мембранные белки, 980
 - размеры, 1811P, 1811–1813
 - регуляция белков, **1813–1814**
 - сборка/синтез, **1189–1191**, 1811, 1811P
 - соединительные ткани, 1808, **1811–1813**
- Протеолиз, 602, *см. также* Протеасомы;
Убиквитиновый путь
- апоптоз (программируемая клеточная смерть), каспазы, *см.* Каспазы
 - инсулин, 228, 230P
 - контроль клеточного цикла, **1636**
 - регулируемое разрушение, **608–609**
 - сигналы деградации, 609P
 - устойчивость белковых агрегатов, 611
- Протеомика, **286**
- Протисты, **32–34**, 47P
- Протокадгерины, 1745, 1748T
- Протон, *см.* Ион водорода (H⁺, протон)
- Протондвижущая сила, 1263, 1263P, 1310–1311
- Протонные насосы, 1272–1273, 1274P, *см. также* Ферментные комплексы дыхательной цепи
- аллостерия, 1285
 - атомное строение, 1283
 - бактериородопсин, **986–988**
 - лизосомы, 1197, 1197P
 - общий механизм, 1286P
 - окислительно-восстановительные потенциалы, 1283, 1283P
 - фотосинтез, 1306, 1311
 - эволюция, 1335
- Протонный градиент, *см.* Электрохимический протонный градиент
- Протоонкогены, 1886, 1894, 1894P
- Протофиламенты, 1520, 1520P
- Проточная цитометрия, 886, 1629–1631, 1631P
- Профаза
- мейоз, 1676–1677, 1948, 1950–1951, 1951P
 - митоз, 1622, 1648P, 1655–1656, 1658, *см. также* Митотическое веретено деления
- Профили гидрофобности, трансмембранные белки, 974, 976P
- Профилин, 1532P, 1532–1534, 1534P
- Процессинг РНК (эукариоты), **530–531**
- кэпирование мРНК, 531
 - полиаденилирование, 531
 - регуляция экспрессии генов, 582P, 638, **736–747**, *см. также* Альтернативный сплайсинг
 - 3'-изменения, **743–744**
 - сплайсинг, **736–742**
 - редактирование, **744–747**
 - сплайсинг, *см.* Сплайсинг
 - субъядерные структуры, **559–562**

- Процессирующие тельца (Р-тельца), 762, 764Р
- Прямая связь, транскрипционные цепи, 707, 707Р
- Псевдогены, 379, 390, 393
- Псевдоподии (ложноножки), 1591
- Псевдоузел, структура РНК, 620Р
- Псевдоуридин, модификация тРНК, 565Р
- Психотропные лекарства, 1054, 1060
- Пузырчатка, 1758
- Пузырьки с плотной сердцевиной, *см.* Секреторные пузырьки (везикулы)
- Пуриновые основания, 95, 181Р, *см. также* Аденин; Гуанин
- депуринизация, 454, 456Р
- Пуркинѣ клетки, внутриклеточный кальций, 920Р
- Пурамицин, 590, 592Т
- Пурпурные бактерии
- фотосинтетические реакционные центры, 1272Р, 1305, 1305Р, 1311Р
- эволюция митохондрий, роль, 1319
- Путь по умолчанию, **1228**, 1229Р, *см. также* Экзоцитоз
- Пыльца, 911Р, 1941
- Пэтч-кламп, исследование ионных каналов, 1047Р, **1045–1049**, 1049
- РНК (рибонуклеиновая кислота), **5–10**, 96Р
- биосинтез, 134, 134Р, 136, 137Р
- генетический материал, 460
- гибридизация *in situ*, 901, 902Р
- двухцепочечная (дцРНК), 2354
- деградация, 582Р, 638, 747, **759–760**, 764
- локализация, регуляция экспрессии генов, 582Р, 638, **749–753**
- метод рекомбинантных ДНК, 841, 844
- молекулярная конформация, 5–7, 7Р, 9Р
- передача информации, 508, 508Р, *см. также* Транскрипция
- процессинг, *см.* Процессинг РНК (эукариоты)
- регуляция расщепления, 676–679
- редактирование, *см.* Редактирование РНК
- синтез, 514–516, 627, *см. также* Транскрипция
- — политемные хромосомы, 365Р
- — радиоавтография, 927
- — частота ошибок, 413
- состав, 514–516
- сплайсинг, *см.* Сплайсинг
- структура, *см.* РНК, структура
- типы, 516Т, *см. также конкретные типы*
- — мРНК, *см.* Матричная РНК
- — некодирующая, **553–554**, 556Р
- эволюционное значение, 460, 627, 627Р, *см. также* Гипотеза мира РНК
- РНК, структура, 416, 509Р, 509–511, 511Р
- Tag, роль в аттенуации транскрипции, 737
- вторичная, 620, 620Р
- — шпильки, 519, 620Р
- двухцепочечная, РНК-интерференция (RNAi), 764
- нуклеотиды, 96, 509, *см. также* Нуклеотиды
- сворачивание, 509, 511Р, 620Р, 620–621
- — нековалентные взаимодействия, 99, 99Р, 620
- — тРНК, 565, 565Р
- спаривание оснований, 509, 511Р, 620
- сравнение с ДНК, 627
- третичная, 620Р, 620–621
- фосфодиэфирный остов, 509Р
- РНК, транспорт, 749–753
- механизмы, 749–751, 751Р
- — 3'-UTR, 751–753, 753Р
- регуляция, 1091
- регуляция экспрессии генов, 582Р, 638, **747–753**
- ядерный, *см.* Ядерно-цитоплазматический транспорт
- РНК-ДНК гибриды, 519, 826–828, 829Р
- РНК-РНК перегруппировки
- snРНК, 539
- механизм сплайсинга, 538Р, 538–539, 539Р
- — АТ-АС сплайсосома, 542–544
- — гидролиз АТР, 539–541
- РНК-вирусы
- геномы, 2293Р
- двухцепочечная РНК (дцРНК), 2352, 2354–2355
- защита, RNAi, 764
- сборка, 225–228
- структура, 2292Р
- частота мутаций, 2329–2331
- РНК-затравки, репликация ДНК, 416, 416Р
- РНК-зонды, 828

- РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга (RISC), 762, 762P
- РНК-индуцируемый комплекс сайленсинга транскрипции (RITS), 766
- РНК-интерференция (RNAi), **764–768, 877–878**
- *Caenorhabditis elegans*, 877, 877P
 - Dicer белок, 766
 - *Drosophila*, 877
 - в болезнях человека, 768
 - метод, 877–878
 - механизм работы, 877
 - направляемое дцРНК разрушение оцРНК, 2354
 - обнаружение опухолевых клеток, 1898
 - обратная генетика, 878
 - ограничение накопления мобильных элементов, 766
 - перестройка хроматина, 682
 - экспериментальное применение, 768, 867P
- РНК-подобные полимеры, происхождение жизни, 618, 618P
- РНК-полимераза I, 520, 522Т, 553, 557
- РНК-полимераза II, 520, 522Т
- инициация транскрипции, 523P, 523–525, 527P
 - активаторы транскрипции, 525–527, 527P, 677
 - медиатор транскрипции, 527
 - модифицирующие хроматин белки, 527
 - общие факторы транскрипции, 522–525, *см. также* Факторы транскрипции, общие (TFII)
 - процессивность, 548–550
 - структура, 522P
 - С-концевой домен (CTD), 523, 531
 - *ср.* бактериальные полимеразы, 520–522, 522P
 - терминация транскрипции, 550
 - «фабрика РНК», 531, 533P
- РНК-полимераза III, 520, 522Т, 554
- РНК-полимеразы, 512, 512P, 514P, *см. также конкретные ферменты*
- бактериальные, 516–517, 517P, 674P
 - регуляция транскрипции, 674–676, 676Т, 677
 - сигма-факторы, 516, 676, 676Т
 - *ср.* РНК-полимераза II, 520–522, 522P
 - структура, 517P
 - белок-ДНК взаимодействия, структурные изменения, сопряженные со связыванием ДНК, 516–517, 519
 - коррекция, 512–514
 - механизм реакции, 512
 - нуклеозидтрифосфаты как субстрат, 512
 - ориентация, 520, 520P
 - перестройка хроматина, 667
 - связывание промотора, 517
 - связывание факторов элонгации, 527–528
 - сопряжение с репарацией ДНК, 459–460
 - *ср.* ДНК-полимеразы, 512, 514
 - структура, 512P
 - суперспиральное напряжение, 528–530, 530P
 - точность, 413, 512–514
 - эволюция, 514P
 - энергетика, 517
 - эукариотические, 520–522, 522Т, *см. также* Факторы транскрипции, общие (TFII)
 - РНК-полимераза I, 520, 522Т
 - РНК-полимераза II, 520, 522Т
 - РНК-полимераза III, 520, 522Т
 - регуляция транскрипции, 677
 - функции, 520, 522Т
 - хроматин и, 527, 527P, 528
- РНК-транскрипты, *см.* Матричная РНК (мРНК)
- РНК-эндонуклеаза, 759, 759P
- Рабочий ход миозина, 1559
- Равновесие
- изменение свободной энергии, 119, 121P
 - химическое, 119–121, 121P
- Радиация, влияние на ДНК, 460–462, *см. также* Ультрафиолетовое (УФ) излучение
- Радиксин, 1548
- Радиоавтография, 925, **927–928**, 928P
- ³Н-тимидин, 432–434, 436P
 - ³Н-уридин, 928
 - двумерный электрофорез в полиакриламидном геле, 805P
 - электронная микроскопия, 928P
 - эукариотические репликационные вилки, 432–434, 436P

- Радиоизотопы, 924–925, 925Т
- измерение, 925
 - применение, 823, 927, 927Р, **927–928**, 928Р, *см. также* Радиоавтография
- Радиомечение, 823, 927–928, 928Р
- Радиочастотное излучение, ЯМР, 816
- Радиус атома, 78
- Разветвляющийся морфогенез, 2111–2113, 2113Р
- Развитие, **1995–2017**, *см. также* Эмбрион/эмбриогенез; Сигнальные молекулы/пути; *отдельные организмы и процессы*
- *C. elegans*, *см. Caenorhabditis elegans* развитие
 - *Drosophila melanogaster*, *см. Drosophila* развитие
 - *Xenopus laevis*, *см. Xenopus laevis* развитие
 - асимметричное деление клеток, 1688, 1970Р, 1970–1972, 2009Р, **2007–2010**
 - генетика, *см. Генетика развития и геновая регуляция*
 - детерминация клеток, **2004–2005**, 2005Р
 - дробление яйцеклетки, 1998
 - зародышевые листки и гастрюляция, 1998Р, **1998**
 - индуктивные взаимодействия и сигналы, 2007Р, **2007**, 2012Т
 - клеточная память, 1995, 2005, 2010
 - латеральное ингибирование, 2009, 2010Р
 - миграция клеток, 1751, 1751Р
 - митоз без цитокинеза, **1688–1689**
 - модельные организмы, 2004
 - морфогены и градиенты, 2012–2013, 2014Р
 - мышь, *см. Мыши развитие*
 - нервная система, **2115–2137**, *см. также* Нейрон(ы), развитие
 - общая масса клеток, 1704
 - описательная эмбриология, 2002
 - позвоночные, *см. Позвоночные, развитие*
 - позиционные значения, 2005Р, **2005–2007**, 2007Р
 - позиционные регуляторы, 1704
 - последовательная индукция, **2016**, 2017Р
 - прослеживание последовательности поколений, 2002Р, 2002–2004
 - путь дифференцировки клеток, **2004–2005**
 - растения, *см. Растения, рост и развитие*
 - регуляторная ДНК предопределяет программу, 2001Р, **2001**, 2001–2002
 - сворачивание эпителиального пласта, 1755, 1756Р
 - хронология, 2016–2017, 2017Р
 - четыре важнейших процесса, 1995, 1996Р
 - щелевые контакты, 1783
 - эволюционный консерватизм у животных, 1996Р, 1998
 - экспериментальная эмбриология, 2002, 2002Р
 - эпителиально-мезенхимальный переход, 1753
- Развитие нервной системы, **2115–2137**
- аксоны и дендриты, 1, 2115, 2120–2122, 2122Р
 - влияние жизненного опыта, 2134Р, 2134–2137
 - время рождения нейрона и разнообразие, 2118–2120, 2120Р
 - гибель нейронов, 2125–2126
 - интегрин(ы) и, 1805
 - кадгерин(ы) и, 1751Р, 1751–1753, 1753Р
 - клетки нервного гребня, *см. Нервный гребень, миграция клеток*
 - конусы роста (нарастания), 1610, 1610Р, 2120Р, **2120–2123**, 2214Р
 - наведение, 1751, 2122–2123, 2123Р, 2131Р
 - миграция нейронов, 2118Р, *см. также* Нервный гребень, миграция клеток
 - неврит(ы), 2126Р
 - нейробласты, 2077
 - нейрогенез, 2077, 2077Р, **2115–2118**
 - нейротрофические факторы, 2125–2126, 2126Р
 - нейруляция, 2094Р, 2094–2096
 - нервная пластинка, 2090Р, 2094Р, **2094–2096**
 - нервная трубка, 2094, 2094Р, 2116, 2118Р
 - раннее эмбриональное происхождение, 2115
 - головной и спинной мозг (ЦНС), 2090Р
 - зародыш курицы, 2116Р
 - нервный гребень, 2100
 - периферическая нервная система, 2116
 - специфичность нейронов, **2128–2132**

- стадии, 2115, 2116P
- удаление и перестройка синапсов, 2132P, 2131–2134, 2134P
- формирование нейронных карт, 2128PP, **2128–2129**, 2129P, 2131P
- зависимость от электрической активности перестройка, 2131–2134
- формирование синапсов, 1765P, 2131–2132
- SAM, 1762–1764
- скэффолд-белки, 1764P, **1764–1765**
- щелевые контакты, 1783
- Размер клеток, контроль, 1701–1703
- «Разнообразные анималькулы», Левенгук, Антони ван, 775P
- Разобщители, 1285, 1288
- Рак, **1849–1937**, *см. также* Мутация/и; конкретные раковые заболевания
- ангиогенез в роговице, 2216
- апоптоз, 1730
- деградация внеклеточного матрикса, 1829, 1829P
- инициация, 1878, 1880
- как микроэволюционный процесс, **1849–1876**
- клетки, *см.* Раковые клетки
- клоны, *см. также* Раковые клетки
- происхождение от единственной мутировавшей клетки, **1851–1853**, 1854P
- эволюция клона, 1859P, 1859–1860, 1880
- лечение, **1922–1934**
- антитела против онкогенных белков, 1927
- новые способы лечения, **1923–1927**
- таксол, 1521
- традиционные способы лечения, **1923**
- чувствительность, 1868
- эволюция устойчивости к лечению, 1925
- номенклатура, 1850
- первичный, 1851
- предупреждение, **1876–1884**
- причины/патогенез, 1853, *см. также* Онкоген(ы); Гены-супрессоры опухолей, *см. также* Репарация ДНК
- гены, *см.* Рак, критичные гены
- дефекты репарации ДНК, 425–426, 453T, 453–454, **1864–1866**
- карциногены, *см.* Карциногены
- предотвращение, **1876–1884**
- соматические мутации, 406, **1853**, 1854
- факторы среды, 1726, 1876P
- эпигенетические изменения, 1853, 1860
- развитие (прогрессия), 1856
- естественный отбор, 1859–1860
- микроокружение, 1873P, **1873**
- рак толстой и прямой кишки, **1913–1920**, 1920P
- эффект генетической нестабильности, 1862–1863
- распространение, роль стволовых клеток, 1867
- рецидив, 1868
- рост/прогрессия, **1856**, *см. также* Метастазы
- вносящие вклад свойства, 1874
- деградация внеклеточного матрикса, 1828
- естественный отбор, **1859–1860**
- инвазивность, 1870
- кислород как лимитирующий фактор, 1870
- метастаз, *см.* Метастазы
- нарушения дифференциации клеток, **1863–1864**
- нарушения клеточной смерти, **1863–1864**
- пролиферация клеток, **1699–1700**
- скорость роста, 1859
- смертность в США, 1883P
- *ср.* доброкачественный и злокачественный, 1850, 1851P
- *ср.* эпигенетические и генетические изменения, 1862P
- стволовые клетки, **1866–1867**
- происхождение, **1867–1868**
- свойства, **1868**
- частота встречаемости
- в США, 1851P, 1883P
- как функция возраста, 1854, 1854P
- различия между странами, 1881T
- у мормонов, 1877
- факторы среды, 1876, 1876P
- эпидемиология, 406, 1883–1884
- эпителиально-мезенхимные переходы, 1753

- Рак, критичные гены, **1884–1900**, см. также Мутация/и; Онкоген(ы); Гены-супрессоры опухолей; конкретные гены
- p53 ген/белок и, 1697
 - Rb ген/белок, 1695–1696, 1890–1891, 2053P
 - анализ в развивающихся зародышах, 1887–1888
 - анализ в трансгенных мышах, **1900–1901**
 - обнаружение, **1884–1900**
 - — *Rab* ген, 1890–1891, 1893P
 - — *Ras* ген, **1888–1890**
 - — наследственные раковые синдромы, **1890–1891**
 - — потеря гетерозиготности, 1893
 - — ретровирусы, 1888
 - — ср. доминантные и рецессивные (онкоген против гена супрессии опухоли), 1887P
 - — трансформация клеток, 1887–1888
 - — хромосомные нарушения, 1886–1887
 - различные типы мутаций, 1890–1893
 - регуляция пролиферации клеток, **1901–1904**
- Раковые клетки, **1900–1920**
- активируемый флуоресценцией клеточный сортер, 1867, 1867P
 - клеточные линии, 782T
 - колонизация без ограничений, **1850–1851**
 - кровоснабжение, зависимость, 1929
 - молекулярная характеристика, ДНК-чипы, 635, 637P
 - наследуемые свойства, 1850
 - ползание клеток, 1546
 - потеря контактного ингибирования, 1888P
 - размножение без ограничений, **1850–1851**
 - скорость клеточного деления, 1854
 - стволовые клетки, **1866–1868**
 - теломеразная активность, 1866
 - эпигенетические изменения, метилирование ДНК, **1860**
- Раковые синдромы, наследственные, **1890–1891**
- Рамачандрана карта, углы пептидных связей, 192P
- Рамки считывания
- открытые, см. Открытые рамки считывания (ORF)
 - синтез белков, 565, 565P
- Рана
- ангиогенез, 2216, 2216P
 - заживление
 - — ангиогенез, 2216
 - — контроль оборота клеток, 2180–2182
 - — роль TGF β , 2182
 - путь заражения, 2300–2301
- Ранние гены, уплотнение хроматина, 438–440
- Ранняя клеточная пластинка, 1686
- Расплавленная глобула, 595–597, 597P
- Распознавание интронов и экзонов, 848
- Рассеяние электронов, электронная микроскопия, 931
- Рассеянный склероз, демиелинизация, 1042
- Растворители, вода, 174P
- Растения
- внеклеточный матрикс, 1810, 1831
 - как модельные организмы, см. *Arabidopsis thaliana* (резуховидка Таля)
 - плазмодесмы, **1784–1785**, 1785P, 1785, 1785P
 - развитие, см. Растения, рост и развитие
 - сравнительная анатомия, ср. С₃ и С₄ растений, 1299–1300, 1300P, 1300
 - трансгенные, **872–874**, 874, 874, 875P
 - цветение, недавнее эволюционное приобретение, 52
 - эволюция, 52, 1290–1292
- Растения, рост и развитие, **2143P**, **2139–2163**, 2163
- *Arabidopsis*, см. *Arabidopsis thaliana* (резуховидка Таля)
 - влияние среды, 2145
 - гормональные сигналы, дальнедействующие, **1519**, **2145**, 2149P, **2149**
 - клеточная сигнализация, **2154–2155**, 2155
 - меристемы, см. Меристема
 - микротрубочки и, 1840P, **1838–1842**, 1842
 - периодически повторяющаяся структура, 2152P
 - половое размножение, гаплоидные клетки, 1942
 - последовательное, за счет меристем, **2145**
 - развитие цветка, 2160P, **2160–2161**, 2161P, 2161, 2161P

- регуляторные мутации в кукурузе, 2157P, **2155–2159**, 2159
- рост модулей из примордиев, **2150–2152**, 2152
- сигналы проростков, 2140P, **2143**, 2145
- тургорное давление и, 1834, 1837
- формирование за счет ориентированного деления клеток, **2149**
- эмбриогенез, 2142, 2143, 2144P
- яйцеклетка (зигота), асимметричное деление, 2142
- Растительная клеточная стенка, **1831–1842**, 1842
 - плазмодесмы, 1784–1785, 1785P, 1785, 1785P
 - рост и развитие, 1832P, **1831–1834**, 1834
 - — актиновые филаменты и, 1842
 - — вторичные клеточные стенки, 1831, 1832
 - — микротрубочки и, 1838P, **1838–1842**, 1842
 - — ориентированное отложение, **1837–1838**, 1838
 - — первичные клеточные стенки, 1831, **1834–1835**, 1835P, 1835
 - состав/структура, 1837P
 - — белки, 1835, 1837T
 - — лигнин, 1831, 1832, 1837T
 - — пектины, 1835, 1835P, 1837T
 - — перекрестно сшивающие гликаны, 1832, 1835, 1835P, 1837T
 - — тип клетки и, **1831–1834**, 1834
 - — целлюлоза, 1810, 1832, 1834P, 1834P, **1834–1835**, 1835P, 1835
 - функции и специализация, 1832–1834, 1834P, 1834
 - — прочность на разрыв, 1832, **1834**, 1837
 - — сопротивление сжатию, 1832
- Растительные вакуоли, 1199P, **1199–1200**, 1200P, 1200, 1200P
- Растительные гормоны (регуляторы роста), **1519**, **2145**, 2149P, **2149**
- Растительные клетки, 1299
 - вакуоли, *см.* Растительные вакуоли
 - гибкость, 872
 - деление, 1831
 - дифференцировка клеток, сохранение генома, 634, 636P
 - клетки обкладки сосудистых пучков, 1299
 - клеточная стенка, *см.* Растительная клеточная стенка
 - культура, 779–780, 872
 - мезофилл, клетки, 1299
 - микротрубочки, 1685–1686, 1838P, 1840P, 1838–1842
 - отсутствие centrosом, 1659
 - пластиды, 1292P, 1292–1293
 - развитие, *см.* Растения, рост и развитие
 - тотипотентность, 872
 - трансформация, 875P
 - тургорное давление, 1834
 - фиксация углерода, *см.* Фиксация углерода; Фотосинтез
 - фотосинтетические органеллы, *см.* Хлоропласт(ы)
 - цитокинез, 1685P, **1685–1686**, 1686P, 1686
 - эволюционное происхождение, 41
- Растительные модули, **2150–2152**, 2152
- Растровая электронная микроскопия, *см.* Сканирующая (растровая) электронная микроскопия (SEM)
- Расхождение хромосом, *см. также* Мейоз; Митоз; Сестринские хроматиды
 - мейотическая (гомологичные хромосомы), **1951–1954**
 - — нерасхождение, 1893P, 1954–1956
 - митотическое, 1326, 1326P, 1673P, **1673–1674**
- Рауса саркома, вирус, 1887, 1888P, 2297
- Раффлы, на ведущем конце клеток, 1596P
- Реакция на трансплантат, **2420–2421**
- Регенерация
 - базальная мембрана и, 1792P, 1792–1794
 - вставочная, 2069, 2069P
 - зрительного нерва, у лягушки, 2128
 - скелетных мышц, **2238–2244**
- Регенерация конечностей, саламандра, 2263, 2263P
- Регулируемый секреторный путь (экзоцитоз), 1228, 1229P, 1234, *см. также* Экзоцитоз
 - локализация, 1234P, **1234**
 - разрастание плазматической мембраны, 1236, 1237P
- Регуляторная ДНК, 9–10, 317
 - как особенность зукариот, 44–45

- модульная организация гена *eve*, 2048P
- программирование развития и, 2001, 2001P
- формирование зародыша *Drosophila*, 2036
- Регуляторная легкая цепь миозина (RMLC), Rho-опосредованное фосфорилирование, 1681
- Регуляторные Т-клетки, 2367–2368, 2410–2411, **2418–2420**
- Регуляторные каскады, 256, 743P, 743–744
- Регуляторы роста у растений (растительные гормоны), **1519**
- Регуляция модификацией по нескольким сайтам, **283–285**, 285P
- Регуляция путем обратной связи, 256–258, *см. также* Аллостерическая регуляция; Отрицательная обратная связь (ингибирование по типу обратной связи); Регуляторные каскады
- метаболические пути, 256–258, 1286–1288
- положительная, *см.* Положительная обратная связь
- Регуляция экспрессии генов, 694P, **634–771**, *см. также* Хромосомные пuffs; *Drosophila* развитие
- генетические переключатели, *см.* Генетические переключатели
- генный осциллятор, 710, 710P
- гормональная, глюкокортикоидная регуляция, 635, 638, 713, 713P
- клеточная память, 705, 705P
- комбинаторный контроль, **652–654**, 654, 654P, 717, 717P
- контролирующие области генов, *см.* Контролирующие области генов
- контроль активности генов, 638P
- контроль распада мРНК, 638P, **759–760**
- координируемый контроль, 712P, 712–713, 715, 715P
- посттранскрипционная, *см.* Посттранскрипционная регуляция
- регуляторные белки, *см.* Белки-регуляторы генов
- роль структуры ДНК, 640–642, 642P
- сайт-специфическая рекомбинация, **497–498**
- транскрипционный, *см.* Транскрипционный контроль экспрессии генов
- уровни контроля, 638P
- «шум», 734–736
- эволюция, 676–677
- Редактирование РНК, 744, *см. также* Гид-РНК
- мРНК млекопитающих, 746
- митохондриальная мРНК трипаносом, 744, 746P
- модификация рРНК, 554, 554P, 556P
- регуляция экспрессии генов, **744–747**
- транспортная РНК, 565P, 566, 566P
- эволюционное значение, 744–746
- Редокс-пары (окислительно-восстановительные), 1273
- Редокс-потенциал, *см.* Окислительно-восстановительный (редокс-) потенциал
- Редокс-реакции, *см.* Окислительно-восстановительные (редокс-) реакции
- Резонансный перенос энергии флуоресценции (FRET), 811, 811P, 913–915, 916P
- Резуховидка Таля, *см.* *Arabidopsis thaliana*
- Рекомбинантные белки, *см. также* Очистка белков
- белковые маркеры, 794–797, 844
- векторы экспрессии, 841, 844P
- применение, 841, 844
- Рекомбинационные сигналы, *см.* Последовательности рекомбинационных сигналов
- Рекомбинационный комплекс, 1957
- Рекомбинация, 404, 500P, 852P
- беспорядочная, 482–483
- генетическая инженерия, *см.* Метод рекомбинантных ДНК
- мейотическая, *см.* Гомологичная рекомбинация (кроссинговер); Мейоз
- общая (гомологичная), *см.* Гомологичная рекомбинация (кроссинговер)
- роль репарации ДНК, гомологичное соединение концов, 490
- сайт-специфическая, *см.* Сайт-специфическая рекомбинация
- цепи антител, 2401–2403
- Рекрутирование каспазы, домен (CARD), 1719
- «Ремонтные фабрики», гомологичная рекомбинация, 480, 480P
- Ренатурация ДНК, *см.* Гибридизация ДНК
- Рентгеновская кристаллография

- ДНК, 299–300, 302
- исторические аспекты, 817Т
- карты электронной плотности, 814
- расшифровка структуры белков, 209, 814Р, **813–816**
- структура IgG, 2396Р
- Рентгеновские лучи, 813–814
- синхротрон, 816
- чувствительность, дефекты репарации ДНК, 453Т
- Репарация ДНК, 404, **453–505**, *см. также Повреждение ДНК; отдельные пути репарации*
- ДНК-полимеразы, 476
- важность, 453
- важность структуры ДНК, 456
- гомологичная рекомбинация, 453Т, 500
- двухцепочечные разрывы, 456Т, **476–490**, 490Р
- дефекты, *см. Заболевания репарации ДНК*
- задержка клеточного цикла, 490–505
- идентификация, 453
- исправление ошибок спаривания, *см. Исправление ошибок спаривания (mismatch-репарация)*
- невозможность, *см. Мутагенез*
- ошибки, 476, 480
- прямое химическое исправление, 457
- разные способы, 453, 456–457
- репарация поперечных сшивок, 453Т
- синтез «через повреждения», 453Т
- сопряжение с РНК-полимеразами, 459–460
- транскрипционное сопряжение, 459–460
- ферменты, 454, 459Р
- эксцизионная репарация нуклеотидов, 453Т, **457**, 459Р
- эксцизионная репарация оснований, **297–298**, 459Р
- Репарация вырезанием нуклеотидов, *см. Эксцизионная репарация нуклеотидов*
- Репарация вырезанием оснований, *см. Эксцизионная репарация оснований*
- Репликативное старение клеток, 449, 780, 1629, 1699, 1866
- Репликационная вилка, 408–410, 411Р, *см. также Репликация ДНК*
- ДНК-чипы, 438, 440Р
- асимметрия, 408, 410
- бактериальная, 408, 423–425, 432
- инициация, 432, 432Р, *см. также Точка начала репликации (ориджин)*
- кооперативность, 421–423
- матричная нить, 408, 408Р
- расплетание цепей, 418, *см. также ДНК-хеликазы; ДНК-топоизомеразы*
- расположение белков, 423Р
- синтез ведущей цепи, 410, 411Р, 423Р, 431Р
- синтез отстающей цепи, 409–410, 411Р, 416, 416Р, 423Р, 431Р
- структура, 410, 411Р
- эукариотическая, 429, 1640
- — взаимодействие нуклеосом, 429
- — гистоны, 446
- — млекопитающие, 431Р, 434–436
- — ответ на повреждение ДНК, 1696
- — сборка нуклеосомы, 445–446
- — скорость движения, 436
- — факторы сборки хроматина (CAF), 446
- — экспериментальный анализ, 436Р
- Репликационные единицы, эукариотические точки начала репликации, 434–436
- Репликация ДНК, 3, 307, 308Р, 404, **408–453**, *см. также Репликация хромосом; отдельные компоненты*
- аппарат, 423Р, **408–431**
- — ДНК-линаза, 416, 418Р
- — ДНК-полимераза, *см. ДНК-полимеразы*
- — ДНК-праймаза, 416, 416Р, 418, 423Р
- — ДНК-топоизомеразы, 428Р, **426–429**, 429Р
- — ДНК-хеликазы, 418, 418, 419Р
- — белки, связывающие одноцепочечную ДНК, 418, 419Р, 421Р
- — кооперативность, 421–423
- — праймосома, 423
- бактериальная, 429, 432, 434Р
- — концы репликации, 448
- инициация, *см. Инициация репликации ДНК*
- история исследований, 408–409
- катенация ДНК, 1646
- коррекция, 411–413, 413РР
- матричный синтез, 307, 308Р, 408
- методы анализа, 432–434, 436Р, 438, 438Р

- митохондриальная, 1314–1315, 1315P
- неправильная модель репликации ДНК, 411P
- ошибки, 376–378, 411, 414–416, 423–425, *см. также* Повреждение ДНК; Мутация/и
- полуконсервативная природа, 408, 408P, 410P
- проблема закручивания, 426P
- проблема концевой репликации, 448
- различие нитей, 425, *см. также* Исправление ошибок спаривания, *см. также* Одноцепочечные разрывы ДНК
- метилирование в прокариотах, *см.* Метилирование ДНК
- надрезы у эукариот, 426, 426P
- репликационная вилка, *см.* Репликационная вилка
- сборка нуклеосом, 445–446
- синтез ДНК, *см.* Синтез ДНК
- *ср.* транскрипция, 511–512
- точки начала, *см.* Точки начала репликации
- точность, 411–413, 414P, *см. также* Клеточный цикл
- филогенетический консерватизм, 429
- эукариотическая, 429, *см. также* Клеточный цикл
- S-фаза клеточного цикла, 436, 438, 438P, 1642P, **1640–1643**
- время, 438
- инициация, *см.* Инициация репликации ДНК
- концы хромосом, *см.* Теломеры
- множественные репликационные вилки, 434, 436P
- репликационные вилки, *см.* Репликационная вилка
- скорость репликации, 434
- точки начала репликации, *см.* Точка начала репликации (ориджин)
- хроматин, 438–440
- Репликация хромосом, 321P, 319–322, 322P, *см. также* Клеточный цикл; Репликация ДНК; Синтез ДНК; Митоз
- дрожжи, 322
- конденсация хроматина и время, 438–440, *см. также* Конденсация хромосом
- контроль, *см.* Контроль клеточного цикла
- необходимые структурные изменения, 1640
- расхождение, *см.* Расхождение хромосом
- сестринские хроматиды, *см.* Сестринские хроматиды
- теломера, 322, 322P, *см. также* Теломеры
- точка начала репликации, 321, 322P
- удвоение в S-фазе клеточного цикла, 1622
- центромера, 321–322, 322P
- Репортерные гены
- GFP, *см.* Зеленый флуоресцентный белок (GFP)
- *LacZ*, 680P
- анализ экспрессии генов, 878P, **878–880**
- Репрессорные белки
- ДНК-связывающие, 644T, 646P, 648P, 651P
- механизмы, 667–668, 668P, 671P, 685, 687P
- открытие, 640
- прокариотические
- *Сro* репрессор, *см.* *Сro* репрессор
- *lac* репрессор, *см.* *Lac* репрессор
- *Met* репрессор, 651P
- *лямбда* репрессор, *см.* *Лямбда* репрессор
- связывание оператора, 667–668, 668P
- триптофановый репрессор, *см.* Триптофановый репрессор
- репрессоры трансляции, 753, 756P
- эукариотические, **685**, 685–688, 688PP
- Репродуктивное клонирование, 783, 783P, 1989–1991, 1991P
- овечка Долли, 1967
- Реснитчатые, 40P
- Реснитчатые клетки, дыхательные пути, 2194–2197
- Реснитчатый эскалатор, 2195, 2303
- Реснички, **1582–1587**
- апикального домена эпителиальных клеток, 1237
- базальные тельца, 1585, 1585P
- в право-левой асимметрии, 2104P, 2105
- первичные, 1587
- подвижность, 1582, 1582P
- полярность, биения в дыхательных путях, 2195P
- сравнение со жгутиком, 1582
- упаковка микротрубочек, 1583P

- Ресничный (аксонемный) динеин, 1582–1583, 1583P, 1585P
- наследственные дефекты, 1585
- Рестрикция, ферменты
- биологическая функция, 820–822
- метод рекомбинантных ДНК, **820–822**, 823P, 833–834
- специфичность к последовательности, 822
- Рестрикция-модификация, 820
- Ретиналь, 250, 250P, 986, 2191
- Ретино-тектальная карта, 2128, 2132P, 2131–2134
- Ретинобластома, 1695, 1890–1891, 1891P
- Ретинобластомы ген/белок, *см. Rb* (ретинобластома) ген/белок
- Ретиновая кислота, 1363P, 1364, 1964
- рецептор, 1365P
- Ретровирус-подобные ретротранспозоны, 485, 486T, 489, 492P, *см. также* Ретровирусы
- LTR, 486T
- обратная транскриптаза, 486T
- человеческий геном, 318P
- Ретровирусы, *см. также* Ретровирус-подобные ретротранспозоны
- Gag белки, сдвиг рамки считывания при трансляции, 589, 590P
- Pol белки, сдвиг рамки считывания при трансляции, 589, 590P
- ВИЧ, *см. ВИЧ* (вирус иммунодефицита человека, HIV)
- включение в геном, 491P, *см. также* Транспозиция
- геном, 491P
- жизненный цикл, 491P
- защита хозяина, 2354
- интеграна, *см. Интеграна*
- обратная транскриптаза, *см. Обратные транскриптазы*
- онкогенез, 1887
- сдвиг рамки считывания при трансляции, 589, 590P
- частота мутаций, 2219
- Ретромеры, 1159–1160, 1160P
- Ретротранслокация, неправильно свернутые белки, 602, **1135–1136**, 1136P
- Ретротранспозоны, 486T, 494, *см. также* Ретровирус-подобные ретротранспозоны
- Рефракторный период, репликация *E. coli*, 432, 436P
- Рецептор(ы), *см. также* Рецептор-опосредованный эндоцитоз; *конкретные типы*
- внутриклеточные, 1350, 1350P, *см. также*
- Ядерные рецепторы гормонов
- даун-регуляция, 1220
- лиганд-зависимые ионные каналы, *см. Лиганд-зависимые ионные каналы*
- поверхностные, *см. Поверхностные рецепторы клеток*
- редактирование, 2375, 2375P, **2403**, *см. также* Иммунологическая толерантность
- Рецептор-опосредованный эндоцитоз, 1204, **1214–1226**
- деградация вещества, 1217P
- импорт внеклеточных макромолекул, **1214–1216**, 1217P
- поглощение EGF, 1219
- поглощение железа, 1219
- рециркуляция рецепторов, 1217P
- сигнальные пептиды, 1216
- сортировка мембранных белков, 1219P
- транцитоз, 1217P, 1223P, **1223–1225**
- Рецептор-подобные тирозинфосфатазы, 1516, *см. также* Тирозинфосфатазы
- Рецепторная гуанилилциклаза, 1516
- Рецепторные белки, *см. Рецептор(ы)*
- Рецепторные киназы, сопряженные с G-белками (GRK), 1515, 1515P
- Рецепторные серинкиназы, эволюция семейства, 267P
- Рецепторные тирозинкиназы, *см. Тирозинкиназные рецепторы (RTK)*
- Рецепторы матрикса, 1794
- интегрин(ы), *см. Интегрин(ы)*
- Рецепторы прикрепления, рециркуляция лимфоцитов, 2379–2381
- Рецепторы смерти, апоптоз, 1720P, **1720–1722**
- Рецепторы, сопряженные с G-белками (GPCR), 987, 1367, 1368P, 1514, 1514P, 1514P, **1514–1516**, *см. также конкретные рецепторы*
- Flamingo белки, 1759
- десенсibilизация, 1515P, **1515**
- зрительная трансдукция, 1515, 1515P

- инозитолфосфолипиды и, 1515P, 1515PP, 1515T, **1515–1516**
- обонятельные рецепторы, **1515**
- регуляция ионных каналов, **1515**
- усиление сигнала, 1515, 1515P
- фоторецепторы, **1515**
- циклический АМР и, 1514, 1514P, 1514T
- Рецепторы, сопряженные с ферментами, **1367**, 1368P, **1516–1518**, *см. также конкретные рецепторы*
- классы, 1516
- Рецессивные мутации, 858
- Речная слепота (африканский онхоцеркоз), 2326
- Рибоза, 177P, 181P, 509, 509P
- Рибозимы, 580–582, 621PP, 624P, *см. также* Каталитическая РНК
 - аллостерия, 624P
 - катализируемые реакции, 623T
 - конформационные изменения, 621, 624P
 - рибосомы, **580–582**
 - сворачивание РНК, 621, 621P
 - синтетические, 621P, 627
 - *ср.* белковые катализаторы, 621
- Рибонуклеаза, размер, 1813P
- Рибонуклеиновая кислота, *см.* РНК (рибонуклеиновая кислота)
- Рибопереключатели, 737P, 737–739, 754P
- Рибосомная РНК (рРНК), **8–9**, 572
 - бактериальная, 580P, 582P
 - гены, 553–554, 554P, 557, 1323, 1972
 - модификации, 554, 554P, 556P
 - синтез, **553–554**, *см. также* РНК-полимераза I; РНК-полимераза II
 - созревание, 553–554, 554P, 556P, *см. также* SnoРНК
 - транскрипция, 512P, 514–516, 522T
 - функции, 516T, 580
 - эукариотическая, 553–554, 554P
- Рибосомные белки, 572
 - бактериальные, 580P, 582P
 - расположение в рибосоме, 580–582, 582P
 - трансляционный контроль, 753
- Рибосомы, 8–9, 10P, 573P
 - бактериальные, 225–228, 580P, 582P
 - — связывание антибиотиков, 590, 590P, 592T
 - — *ср.* эукариотические, 573P
 - гидрофобные взаимодействия, 586
 - мембраносвязанные, 1118, 1120P
 - полирибосомы (полисомы), *см.* Полирибосомы
 - рибозимная активность, **580–582**
 - сборка, 225–228, *см. также* Ядрышко
 - — бактериальные, 225–228
 - — эукариотические, 556–557, 559P, 573–575
 - свободные, 1118, 1120P
 - синтез белков, **572–576**, 753, *см. также* Белки, синтез
 - сканирование с подтеканием, 756
 - состав, *см.* Рибосомные белки; Рибосомная РНК (рРНК)
 - структура, 573P, 572–575, 580P, 580–582, 582P
 - — большая субчастица, 575
 - — каталитический участок, 580–582
 - — малая субчастица, 575
 - — расположение РНК, 580, 580P
 - — расположение белков, 580–582, 582P
 - — сайты связывания, 575P, 575–576
 - участок внутренней посадки рибосомы (IRES), **757**
 - шероховатый ЭР, 1112–1114
 - электронная микроскопия, одночастичная реконструкция, 942P
 - эукариотические, 553–554, 556–557, 573P
 - эффективность, 575
- Рибулоза, 177P
- Рибулозобисфосфаткарбоксилаза, 1296P, **1296**, 1299
- Ригорное состояние миозина, 1562
- Рифамицин, 592T
- Роговицы опухоль, ангиогенез, 2216, 2216P
- Родамин, 902–904
- Родопсин, 1515, 1515P, 2191
 - встраивание в мембрану ЭР, 1129P
 - связывание ретиналя, 250, 250P
 - связывание с динеином, 1567
- Родственный LDL-рецептору белок (LRP), 1518, 1518P
- Розетка, целлюлозосинтаза, 1837, 1840
- Ромбомеры, 2055
- Рост клеток, 1620, *см. также* Клеточный цикл; Деление клеток; Пролиферация клеток

- зависимость от прикрепления, 1802–1803
- контроль, **1691–1692**
- координация роста и деления клеток, **1700–1703**
- рост организма, **1700**
- рост органов, **1700**
- Рост организма, *см. также* Развитие; Многоклеточность
- ингибирование, 1703, 1704Р
- контроль общей массы клеток, 1692, 1704–1706
- рост клеток и, 1692, **1700**
- Рост, задержка, дефекты репарации ДНК, 453Т
- Ротавирус, 2292Р
- Рубиско, *см.* Рибулозобисфосфаткарбоксилаза
- «С головы», полимеризация, 136, 137Р, 572
- «С хвоста», полимеризация, 136, 137Р
- С₃-растения, 1299–1300, 1300Р
- СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита, AIDS), 2260, 2428, *см. также* ВИЧ (вирус иммунодефицита человека, HIV)
- СПИДа вирус, *см.* ВИЧ (вирус иммунодефицита человека, HIV)
- Сайленсинг генов, *см. также* Метилирование ДНК; Геномный импринтинг; Повторы ДНК; X-инактивация
- CG (CpG) островки, повреждение ДНК, 460–462
- гены-супрессоры опухолей, 1893, 1893Р
- переключение типа спаривания у дрожжей, 702, 704Р
- роль гетерохроматина, 337, 338Р
- Сайт-направленный мутагенез, 868, 868Р
- Сайт-специфическая рекомбинация
 - использование, **495–498**
 - механизмы, *см. также* Интеграза; Транспозаза
 - консервативный, 495Р, **495–498**
 - транспозиционный, *см.* Транспозиция
 - последствия
 - контроль генов, **495–498**
 - мутации, 868, 868Р
 - перестройка генома, 495Р, **495**, 701, 701Р
- Саламандра, регенерация конечности, 2263, 2263Р
- Сальная железа, 2169Р
- Сальтаторное проведение, распространение потенциала действия, 1045
- Самореплицирующиеся молекулы, эволюция
 - автокатализ, 617
 - естественный отбор, 621–624
 - каталитическая РНК, 621, 626Р
 - полинуклеотиды, 617
 - полипептиды, 617
- Самосборка, липидный бислои, 12, 14Р
- Самосплайсинг РНК, 547Р, 547–548, *см. также* Каталитическая РНК
- Саркома Капоза, 1881, 1881Т
- Саркома Рауса, вирус, 1887, 1888Р, 2297
- Саркомер, 1574, 1577, 1577Р
- Саркомы, 1850, 1887
- Саркоплазматический ретикулум, 1017, 1114–1115, 1578
- Сателлитные клетки, скелетные мышцы, 2242
- Сателлитный вирус некроза табака, капсид, 225Р
- Саузерн-блоттинг, 831Р, 831–833
- Сахара, **85–90**, **177–178**, *см. также* Углеводы; Моносахариды; Полисахариды; *отдельные сахара*
 - биосинтез через фотосинтез, 107, 108Р, 1298Р, 1298–1299, *см. также* Фотосинтез
 - источник энергии, 85–90, 139Р, 151–152, 1267Т
 - как строительные блоки, 86
 - полимеризация, 86
 - производные, 178Р
 - структура, 85–86, 88Р, 177, 178Р
 - хранение, 148Р, *см. также* Крахмал
- Сахарный диабет, тип I, 2377
- Сахароза, 789, 1299
- Светлопольная микроскопия, 898
- Световая микроскопия, **895–898**
 - дифференциальная интерференционная микроскопия, 898
 - история, 892
 - микроскоп, 895, 895Р, 930Р
 - обработка изображений, **898–899**, 899Р
 - получение контрастности, 898, 898Р, 899, 899Р

- приготовление образцов, **852–853**, 892, 901Р, **901**
- разрешение, 895Р, 896Р, **893–898**, 908
- ср. электронная микроскопия, 938Р
- светлопольная, 898
- темнопольная, 898
- трехмерная визуализация, 907–908
- конфокальная микроскопия, 910, 911Р
- обращенная свертка изображения, 908, 908Р
- фазово-контрастная, см. Фазово-контрастная микроскопия
- флуоресцентная, см. Флуоресцентная микроскопия
- Световая энергия, 107Р, 921–922, см. также Фотосинтез
- Световые волны, 896РР
- дифракционные явления, 844, 895, 896Р, 898
- фаза, 893, 896Р, 898
- импульс, 921–922
- интерференция, 895–896, 896Р
- получение контрастности, 898, 899Р
- Светособирающий комплекс, 1302, 1302Р
- Свинхолоид, 1521Т
- Свободная энергия, **117–123**, **183–184**
- важность для жизни, 1, **10**
- изменение, см. Изменение свободной энергии Дельта G (ΔG)
- источники, для органотрофов, фототрофов и литотрофов, **18**
- катализ, 112, 247, см. также Ферментативный катализ
- ср. благоприятная и неблагоприятная реакции, 119Р, 1267–1269, 1269Р
- точность трансляции, 592
- Свободные радикалы, 1279–1281, 1338, 2350
- Сворачивание крови (коагуляция)
- антикоагулянты, дезинтегрины, 1828
- деградация внеклеточного матрикса, 1829
- Связанные с гистидинкиназой рецепторы, 1516, **1517**
- Связывание точки ветвления, белок (ВВР), 538Р
- Сдвиг рамки считывания при трансляции, 589, 590Р
- Сдвиг электрофоретической подвижности, 657–658, 658Р
- Сегментация
 - гены, 2043Р, **2042–2045**, 2045Р, см. также конкретные гены
 - — *Drosophila*, см. *Drosophila melanogaster*, гены сегментации
 - позвоночные, 2055, 2056Р, **2096–2097**, 2097Р
 - таймер, **2097–2099**
 - тело насекомого, **2031**, 2033Р, см. также *Drosophila* развитие
- Сегментация, *Drosophila*, 2031
- Седиментационное равновесие, 789, 791Р
- Седиментация, коэффициент, 789, 805
- Секвенирование ДНК, **844–847**
- автоматизация, 847, 847Р
- выравнивание, 817–819
- гель-электрофорез, 823, 825Р
- геномное, см. Геномное секвенирование
- исторические аспекты, 846–847
- метод рекомбинантных ДНК, 820, **823**, 825Р
- определение интронов/экзонов, 848
- предсказание открытых рамок считывания, 848
- предсказание последовательности белка, 209, 847Р, 847–848
- терминирующие цепь нуклеотиды, 847
- человеческий геном, 214, 315–317
- — сравнение, 318, 378, 378, 379Р
- Секвенирование генома, 27Т, 214, 848–849, см. также Эволюция генома
- поиск гомологий, слияние доменов, 861Р
- ср. консервативные и неконсервативные области, 318
- сравнительное, см. Сравнительная геномика
- Секреторные белки, экзоцитоз, 1228
- Секреторные гранулы, см. Секреторные пузырьки (везикулы)
- Секреторные пузырьки (везикулы)
- протеолитическая модификация груза, 1233Р, **1233**
- рециркуляция мембран, **1236**
- синапсы, см. Синаптические пузырьки
- слияние мембран, **1233**
- сперматозоид, 1977
- формирование, **1229–1231**
- экзоцитоз, 1231Р

- яйцеклетка, 1968
- Секреторный С-конец, 743–744
- Секреторный компонент, 2388P
- Секреция типа III, бактериальные токсины, 2287, 2288P, 2304
- Секурин, разрушение APC/C, 1636, 1639, 1670
- Селективные фильтры, ионные каналы, 1029, 1034
- Селектины, **1759–1761**, 1805T
 - L-селектин, 1759, 2379, 2379P
 - структура, 1759–1761, 1761P
 - функции, 1759, 1761P
- Селеноцистеин, рекодирование трансляции, 589, 589P
- Семафорин, 2123P, 2125
- Семейная гипертрофическая кардиомиопатия, 1582
- Семейный аденоматозный полипоз толстой кишки (FAP), 1917, 1917P
- Семенники
 - развитие, **1961–1964**, 1965P
 - сперматогенез, 1977–1978, 1978, 1979P
 - структура, 1977, 1978P
- Семенные каналцы, 1977
- Семлики вирус леса, 2310
- Семя, 2144, 2146P
- Сенсилла, см. Сенсорный волосок
- Сенсорная материнская клетка, 2071PP, 2071–2073
- Сенсорные ганглии черепных нервов, 2116P
- Сенсорные нейроны, 2120P, 2126
- Сенсорный волосок, 2071P, **2071**
- Сепараза, 1670, 1954
- Сепсис, 2352
- Септины, 1685
- Септированные контакты, 1772P, 1772–1773
- Септический шок, 2352
- Сердечная мышца, 1582
 - адгезионные контакты, 1755
 - влияние мутаций, 1582P
 - клетки, 2238P, 2238–2239
 - митохондрии, 1255P
 - саркомеры, 1574
- Сердечнососудистые заболевания, 2299
- Серин, структура, 195P
- Серин-треониновые киназы, **1517**, см. также конкретные киназы
 - клеточная сигнализация, 1517, 1517P
 - растения, **1518–1519**
 - регуляция, 267
 - рецептор-связанные, 267P
- Серин-треониновые фосфатазы, 1517
- Сериновые протеазы
 - активный участок, 232, 234P
 - деградация внеклеточного матрикса, 1829
 - структурная гомология, 206–207, 207P
 - эволюция белкового семейства, 210P, 207–212
- Серотонин (5-гидрокситриптамиин, 5-НТ), 1514
 - нейромедиаторная роль, 1051
 - эндокринные клетки дыхательного эпителия, 2195
- Серповидноклеточная анемия, 2290
- Сертоли клетки, развитие, 1962–1964, 1965P
- Сестринские хроматиды, 371PP, 1622
 - мейотические, 1947
 - митотические, 371, 371PP
 - когезия, 1622, 1645P, **1645–1646**
 - обособление, 1651
 - прикрепление веретена деления, 1664P, **1663–1666**
 - расхождение, 1651, 1670, 1670P, 1672, 1672P, 1673P, **1673–1674**
- Сетки, электронная микроскопия, 931, 931P
- Сетчатка
 - ганглионарные клетки, 2128, 2191
 - гистология и обновление клеток, **2191–2192**
 - избирательность и ретино-текстальная карта, 2129–2131, 2131P
 - структура, 2191P, 2191–2192
 - щелевые контакты, 1784, 1784P
- Сиаловая кислота (NANA), 968P, 1187P, 1189P
- Сибирская язва, 2287, 2287P
- Сигма-факторы, 516, 517P, 676, 676T
- Сигнал-узнающая частица (SRP)
 - структура, 1118, 1118P
 - транспорт белков, **1117–1121**
- Сигналы ядерной локализации (NLS), 1085P, **1083–1086**, 1086
- Сигнальная гипотеза, транспорт белков, 1115–1117, 1117, 1118P

- Сигнальная последовательность, 1077P, **1077–1079**, 1080P
- белки хлоропластов, 1104–1105
 - импорт в пероксисомы, 1109
 - импорт в шероховатый эндоплазматический ретикулум, 1115–1117
 - митохондриальные белки, 1095, 1097P
 - сигналы ядерной локализации, 1083
 - типы, 1079T
- Сигнальная трансдукция, *см.* Передача сигнала (сигнальная трансдукция)
- Сигнальные каскады, **1371**
- Сигнальные клетки, 1348
- Сигнальные молекулы/пути, *см. также конкретные пути/компоненты; конкретные типы/пути*
- DISC, 1720
 - белки, включающие только ВНЗ, 1725
 - внеклеточные, *см.* Внеклеточные сигнальные молекулы/пути
 - внутриклеточные, *см.* Внутриклеточные сигнальные молекулы/пути
 - каспазы, 1719
 - киназы как устройства ввода-вывода, 267P
 - клеточная адгезия и, **1745–1746**, **1759**, 1797
 - протеогликаны, 1814
 - развитие, 2012T, **2012**, *см. также* Развитие; Морфогены, градиенты
 - *C. elegans*, **2024–2026**
 - ингибиторы, **2013–2014**
 - механизмы распространения сигнала, 2014P, **2014–2016**
 - морфогены, **2012–2013**, 2013, 2014P
 - роль в раке, 1902P, 1901–1905
 - сигнальная трансдукция, *см.* Передача сигнала (сигнальная трансдукция)
 - сигнальные белки, 967P, **971–972**
 - скорость обновления сигнальных молекул, **1358–1360**, 1360P
- Сигнальные сети, аналогия «микрочипа», 267P, 267–269
- Сигнальный участок, 1077P, 1077–1079
- присоединение М6P, **1205**
 - сигналы ядерной локализации, 1083–1086
- Симбиоз
- происхождение митохондрий, **39–40**
 - происхождение хлоропластов, **41**
- Симпатические нейроны, зависимость от ФРН, 2126
- Симпатический ганглий, 2126P
- Симпорты, 1011, 1011P, 1015
- Синапс(ы), 1049
- иммунологические, коммуникационные соединения, 1740
 - модификация, зависимость от электрической активности, 2134P
 - организация/структура, 1765P
 - перестройка, 2131, 2135–2137
 - пузырьки, *см.* Синаптические везикулы
 - регенерация, 1792P, 1792–1794
 - сигнализация, 1352P, **1352**
 - синаптическая щель, 1049
 - удаление, 2131–2132, 2132P
 - формирование, 1765P, 2131–2132
 - молекулы клеточной адгезии и, 1762–1764
 - скэффолд белки и, 1764P, **1764–1765**
 - химические, *см.* Химические синапсы
 - электрические, 1783
- Синапсис, 496P, 500P, 1950, 1951P
- Синаптическая сигнализация, 1352P, **1352**
- Синаптическая щель, определение, 1049
- Синаптические пузырьки, **1239–1240**, *см. также* Нейромедиатор(ы)
- слияние мембран, 1233
 - структура, 1241P
- Синаптические связи, перестройка, 2131, 2135–2137
- Синаптобревин, v-SNARE, 1171P
- Синаптономный комплекс, 1948P, 1950P, **1950–1951**
- Синдекан-1, 1815T
- Синдеканы, 1814–1815
- Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД, AIDS), 2428, *см. также* ВИЧ (вирус иммунодефицита человека, HIV)
- Синонимичные мутации, 378
- Синтаксин, t-SNARE, 1171P
- Синтез АТФ, 126, *см. также* АТФ-синтаза; Гликолиз
- гликолитический путь, 143, 145, 146P, 186P, *см. также* Гликолиз
 - зависящий от электронного транспорта, 157P, **1257–1260**, 1260P, *см. также*

- Электрохимический протонный градиент;
 Электрон-транспортные цепи
 — протонный градиент, 1263P, **1263–1266**
 — разобщение, 1285
 — митохондриальный, *см.* Окислительное фосфорилирование
 — фотосинтетический, 148–149, 149P, **1305–1310**
 — нециклическое фосфорилирование, 1308PP, **1305–1310**
 — циклическое фосфорилирование, 1310
 — эволюция, **1334–1341**
 — анаэробы, **1335–1336**
 — брожение, 1334–1335
 — цианобактерии, **1336–1340**
 — энергетика, 126
 Синтез ДНК, **408–410**, *см. также* Репликация ДНК
 — анализ
 — окрашивание BrdU, 438, 438P, 1629, 1629P, 2175, 2180
 — радиоавтография, 432–434, 436P, 927–928
 — гидролиз АТФ, 136, 137P
 — инициация, 431
 — механизм, 410P, *см. также* ДНК-полимеразы
 — репликация ДНК, **408–410**, *см. также* ДНК-полимеразы
 — высвобождение пирофосфата, 409, 410P
 — затравочная цепь (праймер), 409, 410P
 — матричная цепь, 409, 410P
 — отстающая цепь, *см.* Отстающая цепь, синтез (репликация ДНК)
 — удлинение цепи в направлении 5' → 3' (ведущая цепь), 409, 409P, 410, 410P, 414P, **414–418**, 423P
 — связь с синтезом гистонов, 445–446
 — химия, 410P
 — дезоксирибонуклеозидтрифосфаты, 408, 409, 410P
 — удлинение цепи в направлении 5' → 3', 408–409, 409, 410P, 414P, 414–416
 Синтения
 — блоки, эволюция генома, 382
 — консервативная, 318, 382
 — человек и мышь, 319P
 Синтетическая биология, 708, 710P
 Синтетическая леталь, 860
 Синтетический фенотип, 860
 Синхронизация, электрической активности в модификации синапсов, 2131–2134
 Синхронизированные клетки, 438
 Синхротрон, источник рентгеновских лучей, 816
 Синцитий, 1688
 — зародыш *Drosophila*, 690P, 2033
 — мышечные клетки, 2239
 Система комплемента, 2365
 — С3 активация, 2343
 — С3b и С3а, 2343–2344
 — активация, 2343P, **2343–2344**
 — активация Ig, 2390T
 — каскад, 2343P, 2343–2344
 — мембраноатакующий комплекс, 2344, 2344P
 — повреждения красных клеток крови, 2344P
 — поздние компоненты, 2344P
 — приобретенный иммунитет, 2381–2382, 2451, 2451P
 — ранние компоненты, 2343
 — фагоцитоз, роль, 1209
 Сканирующая (растровая) электронная микроскопия (SEM), **935–936**, 936P, 938P
 Скелетные мышцы, **2238–2244**
 — актиновые филаменты, 1538, 1553, *см. также* Актин/актиновые филаменты; Миозин(ы)
 — изменчивость, **2238–2244**
 — клетки, 2238, *см. также* Мышечные волокна
 — дифференцировка, 715, 715P
 — размер клеток, 1574, 1574P, 2238
 — сателлитные клетки, 2242
 — происхождение, **2238–2244**
 — регенерация, **2238–2244**
 — структура, 1553P, 1574, 1575P, 1578, 1578P
 Скользящий зажим, 419, 421P, 431P
 Скоростная седиментация, 788–789, 791P
 Скорость ассоциации, 238P, 811
 Скорость диссоциации, 238P, 811
 Скрамблаза фосфолипидов, **1143**
 Скрейпи, 611–612, 2295
 Скрытые сигналы сплайсинга, 541, 541P, 545, 545P

- Скэффолд-белки, *см.* Каркасные белки (скэффолд-белки)
- Слизь
- механизм защиты хозяина, 2301, 2339
 - секреция, 1183, 1187Р, 2195, 2199
- Слияние доменов, активаторные белки, 680Р
- Сложные олигосахариды, 1187Р, **1185–1189**
- Сложные признаки, 865
- Слуховые волосковые клетки, 2187, 2189Р, 2189РР, **2188–2191**
- Случайный мутагенез, анализ экспрессии генов, 850, 855
- Слюнные железы, политения *Drosophila*, 363РР, 361–364
- Смерть (клеток), *см.* Клеточная смерть
- Собачий парвовирус, зависимое от микро-трубочек движение в аксонах, 2324
- Соединения между клетками и матриксом, 1741Т, 1742, 1742Р, 1744Т, 1794–1807, *см. также* Межклеточная адгезия; Клеточные контакты; Внеклеточный матрикс; Интегрин(ы)
- САМ, 1805Т
 - актин-связанные, 1741Т, 1742, 1744Т
 - полудесмосомы, *см.* Полудесмосомы
 - фибронектин и, 1825
- Соединения между мышцей и сухожилием, 1795
- Соединительная ткань, 1739, 1740Р, 1807Р, *см. также* Эпителий
- базальная мембрана, *см.* Базальная мембрана
 - внеклеточный матрикс, **1807–1831**, *см. также* Внеклеточный матрикс
 - влияние дифференцировки клеток, 2245–2249
 - клетки, 2244Р, **2244–2255**, *см. также отдельные типы*
 - дифференцировка, 2245–2249
 - типы, 2244, 2244Р
 - коллаген, *см.* Коллаген(ы)
- Соединительное разнообразие, соединение фрагментов генов антител, 2401–2403
- Соединительные комплексы, 1771, 1772Р, *см. также* Каркасные (скаффолд) белки
- организация, 1764Р, **1764–1765**, 1765Р
 - пролиферация клеток и, **1771–1773**
- Созревание аффинности, образование антител, 2398, **2404**
- Созревание цистерн, модель транспорта в Гольджи, 1194
- Сократительное кольцо, *см.* Цитокинез
- Сократительные пучки, 1543–1545, 1545Р, *см. также* Актин/Актиновые филаменты
- Соматическая мутация, 406, **1853**, 1854, *см. также* Рак; Мутация/и
- Соматические клетки, 1944
- индуцированная рекомбинация, 2060, 2061Р
 - мутации, 406, **1853**, 1854
 - рекомбинация, индуцированная тепловым шоком, 2060
 - трансплантация ядер, 783Р, 783–785
 - функции, 406Р
- Соматическое гипермутирование, антитела, **2404–2406**, 2406Р
- Соматосенсорная область, кора головного мозга, 2129Р
- Соматостатин, 1514
- Сомиты, **2096**, 2097Р
- Сопряжение реакций, 117Р, 123Р, 1267–1269, *см. также* Свободная энергия
- гликолиз, **143**
 - механическая модель, 126Р
 - образование активированного носителя, 125–126
 - роль АТФ, 128
- Сопряжение, взаимодействие белков с лигандами, 258–260, 260РР
- Сортировка белков
- апикальный домен, **1237–1239**
 - базолатеральный домен, 1239
 - гликофинголипиды, **1239**
 - липидные рафты, 1239
 - сигналы, 1074, 1077Р, **1077–1079**, 1079Т, 1080Р
 - *транс*-сеть Гольджи, 1239Р
 - эндосомы, 1239Р
- Сосудистая ткань
- кровеносные сосуды, *см.* Кровеносные сосуды
 - растений, 2144, 2146Р
- Сочленения, молекулы (рекомбинация), 10000

- консервативная сайт-специфическая комбинация, 495, 497P
- синапсис, 500P
- Спаривание оснований (нуклеотидов)
 - РНК и, 509, 511, 512P, *см. также* Рибосомная РНК; РНК, структура
 - механизм сплайсинга, 539
 - необычное, 411, 509
 - сворачивание РНК, 511P
 - неоднозначное соответствие при спаривании, 566P
 - происхождение жизни, 617
 - синтез ДНК и, 408, 408P, 410–411, *см. также* Репликация ДНК; Синтез ДНК
 - структура ДНК и, 303P, 303PP, 302–305, *см. также* Структура ДНК
- Спасение, в динамической нестабильности, 1520, 1521P, 1658
- Спектрин
 - мембранный цитоскелет, 994, 996P
 - поперечная сшивка актина, 1545P
 - структура, 1546
 - упаковка актиновых филаментов, 1524P
 - формирование сети актиновых филаментов, 1546
- Спектроскопия, электронные переносчики, 1277, 1279P
- Сперма, *см.* Сперматозоиды
- Сперматиды, 1977, 1978
- Сперматогенез
 - регулирующие гены, 1979–1980
 - синцитий, **1978–1980**, 1980P
 - сперматиды, 1977, 1978
 - сперматогонии, 1977
 - сперматоциты, *см.* Сперматоциты
 - стадии, **1977–1978**, 1978, 1979P
- Сперматогонии, 1977
- Сперматозоиды, **1975–1980**
 - домены плазматической мембраны, 993, 994P
 - емкость, 1978, **1982**
 - митохондрии, 1255P
 - образование, *см.* Сперматогенез
 - подвижность, 1977, 1977P
 - предшественники, *см.* Сперматогенез
 - приспособления для доставки ДНК, **1975–1977**
 - связывание с яйцеклеткой, 1942P, 1983P, **1983–1985**, *см. также* Оплодотворение
 - акросомальная реакция, 305P, 1982, **1983**
 - кортикальная реакция и, 1985, 1986P
 - структура, 1975–1977, 1977P
- Сперматоциты, 1977
 - второго порядка, 1977, 1978
 - мейоз в, 1958
 - первого порядка, 1977
- Спинной мозг
 - культура ткани, 779
 - развитие, 2118–2120, 2120P
- Спираль
 - двойная (ДНК), *см.* Структура ДНК
 - правая и левая, 215
 - распространенная структура молекул, 215, 218
 - свойства, 220P
 - Спираль-петля-спираль, белки, **425–426**, 655P
 - Спираль-петля-спираль, мотив, **654–655**, 655P
 - Спираль-поворот-спираль, белки, 646, 646P
 - ДНК-связывающий мотив, *см.* Спираль-поворот-спираль, мотив
 - гомеодоменные белки, *см.* Гомеодоменные белки
 - Спираль-поворот-спираль, мотив, **645–646**, 646P
 - структура, 646P
 - узнавание последовательности, 646–648, 648P
- Спирохеты, структура, 2281P
- Спирт, выделение при брожении, 142, 142P
- Сплайсинг, 531, 533–534
 - АТ-АС сплайсинг, 542–544, 544P
 - альтернативный, *см.* Альтернативный сплайсинг
 - изоформы мышечных клеток, 2241
 - локализация в клетке, 562
 - механизмы, **533–534**, 538P, 544P
 - РНК-РНК перестройки, 539P, 538–541
 - высвобождение, 541
 - машинерия, *см.* Сплайсосома
 - самосплайсирующаяся РНК, *см.* Самосплайсинг РНК
 - спаривание оснований, 539

- структура «лассо», 533, 534P, 538P
- трансэтерификация, 533, 534P
- ошибки, 533–534, 541, 541P, 545, 545P
- пластичность, **545**, 741
- регуляция, 741, 741P
- регуляция экспрессии генов, **736–742**
- определение пола *Drosophila*, 742–743, 743P
- сайты сплайсинга, 538P, 541–542, 542P
- сигналы, 536, 536P
- тРНК, 566, 566P
- транс-сплайсинг, 544P, 544–545
- удаление интронов, **533–534**
- эволюция, 545–548
- эволюционное преимущество, 534
- Сплайсосома, **536–539**, 544P
 - АТ-АС сплайсосома, 542–544, 544P
 - SR белки, 541, 542
 - РНК-РНК перестройки, 539P, 539–542
 - активный участок, 541
 - гидролиз АТР, 539–541
 - каталитические РНК, 541
 - компоненты, 538P, 541, *см. также* snРНК
 - механизм работы, 538P, 538–539
 - механизмы «обеспечения качества», 541
 - сборка, 538
 - транс-сплайсосома, 544P, 544–545
 - эволюция, 545–548
- Споры, 1941
- Сравнительная геномика, 32, 318, **375–398**
 - *ср.* человек и мышь, 379P
 - *ср.* человек и шимпанзе, 378, 379P
 - филогенетический футпринтинг, 663, 663P
 - филогенетическое дерево, 378, 378P
- Сравнительная геномная гибридизация, идентификация опухолевых клеток, 1897, 1897P
- Срезы, приготовление препаратов для микроскопии, 901, 901P, 931
- Старение, *см. также* Рак
 - преждевременное, дефекты репарации ДНК, 453T
 - связь с укорочением теломер, 449–451
- Старение клеток
 - поглощение макрофагами, 1208
 - репликативное, *см.* Репликативное старение клеток
 - укорочение теломер, 449
- Старт (точка рестрикции), клеточный цикл, 1623, 1632, 1639, 1696
- Старт переноса, сигнал транспорта ЭР, 1125
 - механизм, 1126P
- Статмин, 1525P, 1534
- Стафилококковая нуклеаза, скорость реакции, 242P
- Стволовые клетки, **2168–2271**
 - асимметрия судьб дочерних клеток, 2174, 2174P
 - гипотеза «вечной цепи ДНК», 2180P, 2179–2182
 - инженерия, **2259–2269**
 - кроветворные, *см.* Кроветворные стволовые клетки
 - мультипотентная, кроветворная, **2219–2238**
 - образование, 2174P, 2174–2175, 2179
 - популяция клеток-основательниц, 2179P
 - роль в раке, **1866–1867**, 1868
 - скорость деления, 2172, 2180
 - эмбриональные, *см.* Эмбриональные стволовые (ЭС) клетки
 - эпидермальные, **2168–2185**
 - эпителий кишечника, 2197–2199
- Стеариновая кислота, 179P
- Стекловидный лед, 931, 939
- Степень уплотнения, упаковка ДНК, 322–324
- Стереоцилии, 2188, 2188, 2189P
- Стерины, мембранные липиды, **954–956**
- Стероиды, структура, 180P
- Стила фактор, 2102
- Стимулирующий G-белок (G_s), 1514, 1515T
- Стимуляция центральным веретеном деления, модель, 1683P, 1685P
- Столбики доминирования глаз, 2134P
- Столбчатый эпителий, 1741, 1767–1768
- Стоп-кодона, 563P, 586
- Стрептомицин, 592T
- Стресс, высвобождение кортизола, 713
- Стрессовые фибриллы, 1678
- Стрихнин, механизм действия, 1051
- Строма, 1788
 - молочная железа, 2185
 - роль в прогрессии опухоли, 1873
 - транспорт белков, 1104–1105
 - хлоропласты, 1095P, 1104–1105, 1293, 1295P, 1310

- Стромальные клетки, контроль кроветворения, 2231Р, 2231–2232
- Структура ДНК, 96Р, **299–308**, 308, *см. также* Топология ДНК
- 3′–5′ полярность, 302
 - белок-ДНК взаимодействия, 640–642, 642Р, *см. также* ДНК-связывающие мотивы (белковые)
 - двойная спираль, 303Р, 302–305, 305Р, 519Р, *см. также* Репарация ДНК
 - большая бороздка, 305Р, 640Р
 - витки, 303–305
 - водородные связи, 302–303, 303Р, 305Р, 642
 - вращение, 426, 426Р
 - комплементарные цепи (нити), *см. Репликация ДНК*
 - малая бороздка, 305Р, 640Р
 - разделение цепей, 418
 - репарация, 454–456
 - деформация, связанная с упаковкой, 327, 328Р
 - комплементарные цепи (нити), **302–305**, 408Р
 - антипараллельная природа, 303Р, 305, 409
 - роль в репарации, 456
 - роль в репликации, 307, 307, 308Р, 408
 - механизм наследования, **305–307**, *см. также* Ген(ы)
 - нуклеотиды, 96, 303Р, 302–305, *см. также* Нуклеотид(ы)
 - остов (сахаро-фосфатный), 303Р, 302–305
 - полярность, 303Р
 - последовательность, 640–642, *см. также* Изгиб ДНК
 - расшифровка, 299–300, 302
 - рентгеновская дифракция, 299–300
 - спаривание оснований, 303Р, 302–305, 642Р
 - *ср.* РНК, 627
 - фосфодиэферные связи, 305Р
 - шпильки, 418
- Структура белков, 91–93, **190–230**, *см. также* Пептидные связи; Фолдинг (сворачивание) белков
- С-конец, 91, 191Р, **743–744**
 - N-конец, 91, 191Р
 - аминокислотная последовательность, **190–206**, *см. также* Аминокислоты
 - анализ, 209
 - базовая структура, 198, 203, 203Р
 - вторичная структура, 205
 - α -спираль, **198**, 202, 203Р, **203**
 - β -лист, **198**, 202, 203Р, **203**, **649**, 651Р
 - домены, 198, 205, 534
 - SH2-домен, 198, 200–201, 205Р, 234, 235
 - SH3-домен, 205Р
 - крупный киназный домен, 205Р
 - модули, 210Р, 210–212
 - пары, 212
 - слияние, 861Р
 - трехмерные модели, 198, 200–201, 206Р
 - эволюционный след, 234Р, 234–235, 393Р
 - компоненты, 191Р
 - компьютерный анализ, 209, 209Р
 - конформация, **197–198**, 232Р, 232–234, 234Р, *см. также* Аллостерическая регуляция; Конформационные изменения
 - нековалентные силы, 191–192
 - неструктурированные полипептидные цепи, 220–221
 - ограниченное число фолдов, 205–206
 - первичная структура, **205**, *см. также* Генетический код
 - кодирование, 305Р, 305–307, 307Р
 - предсказание, 847–848
 - полипептидный остов, 190
 - представление, 198–201, 217Р
 - расшифровка, 209, **798–820**
 - ДСН-ПААГ, 798
 - рентгеновская дифракция, 209, 814Р, **813–816**
 - связь структуры с функцией, 232–234
 - спиральные филаменты, 215, 217Р, 218, 218Р, *см. также* Актин/актиновые филаменты
 - актин, 218Р
 - закручивание, 215
 - сборка, 218Р
 - электронная микроскопия, 939Р
 - стабильность, 206, 221Р, 221–223
 - субъединицы, 210Р, 212Р, 214–215, 215Р
 - трансмембранные области, 203
 - третичная структура, 205

- четвертичная структура, 205
- Структура генов
 - прокариоты
 - бактериальные хромосомы, 310, 2283Р
 - опероны, 667Р, **712–713**
 - эукариоты, *см. также* Сплайсинг
 - интроны, *см.* Интрон(ы)
 - контролирующая область гена, *см.* Контролирующая область гена
 - модификация пре-мРНК, 533
 - организация интрон-экзон, 534
 - у человека, 317Т, 315–318, 534Р
 - экзоны, *см.* Экзон(ы)
- Структура хроматина, **324–334**, 336, *см. также* Перестройка хроматина; Структура хромосом
 - 30-нм фибрилла, 324, 324, 325Р, 333Р, **331–334**, 334Р, 340, *см. также* Гистоны; Нуклеосома/ы
 - «бусины на нити», 324, 324, 325Р
 - влияние на время репликации, 438–440
 - интерфаза, петли, 359Р, 358–361
 - исторические аспекты, 337
 - митотические хромосомы, 371, 371Р, 375
 - наследование, 730–734, *см. также* Гетерохроматин
 - прямое наследование, 355Р, 352–358
 - регуляция, **336–356**
 - удвоение в S-фазе, 1643–1645
 - центромерная, *см.* Центромера/ы
 - эпигенетика, 728
- Структура хромосом, 852Р
 - X-инактивация, *см.* X-инактивация
 - глобальная (высшего порядка), **356–375**
 - конденсация, *см.* Конденсация хромосом
 - петли, 358Р, 359Р, 358–361
 - политения, *см.* Политенные хромосомы
 - хроматин, *см.* Хроматин
 - изменения в клеточном цикле, 319Р, 319–321, 371Р, *см. также* Клеточный цикл; Интерфазные хромосомы; Митотические хромосомы
 - линейная, 321Р, 321–322, 322Р
 - репликация и, 321, 322Р, 1640, *см. также* Репликация хромосом; Точка начала репликации
 - теломера, *см.* Теломеры
 - упаковка ДНК, **310–334**, 336
 - хроматин, *см.* Хроматин
 - центромера, *см.* Центромера/ы
 - Субстрат, связывание фермента, 112–113, 239–241, *см. также* Лиганд(ы)
 - Субъединицы (макромолекул), **223–230**
 - Судебно-медицинская генетика, 843Р
 - Сукцинат, 187, 188Р
 - СукцинилСоА, 187, 188Р
 - СукцинилСоА-синтетаза, 188Р
 - Супероксид, старение, 1330
 - Супероксиддисмутаза (SOD), 1319, 1330
 - Супероксидный радикал, 1281
 - Суперспирализация, 528Р, 528–530
 - Суперспираль, мотив, 203, 203Р, 218, 536Р
 - Суперспиральное напряжение, 528Р, 528–530
 - Супрахиазматическое ядро, циркадные ритмы, 710
 - Супрессия, аутореактивных лимфоцитов, 2375, *см. также* Иммунологическая толерантность
 - Супрессорные мутации, 853Р
 - Супрессоры опухолей, *см.* Гены-супрессоры опухолей
 - Суррогатные легкие цепи, пре-B-клетки, 2384, 2403–2404, 2404Р
 - Сурфактант, 2194, 2195Р
 - Суточные ритмы, 710Р, **708–712**, *см. также* Циркадные часы
 - Сфингозин, 954, 955Р, 968, 1141–1143
 - Сфинголипиды, мембранные липиды, **954–956**, 964, *см. также конкретные типы*
 - Сфингомиелин, 954, 955Р, 1141–1143
 - Сцепленное состояние миозина, 1562
 - Сцинтилляционный счетчик, 925
 - Счетчик Гейгера, 925
 - Т-кадгерин, 1745–1746, 1748Т
 - Т-клетки, **2129–2154**, **2363**, **2410–2441**, *см. также* CD4 Т-клетки; CD8 N-клетки; Цитотоксические Т-клетки (Т_С); Регуляторные Т-клетки; Т-клеточные рецепторы, Т-клеточные корецепторы
 - CD4, 2427Т, **2427–2428**, 2428Р, *см. также* Т-хелперы (Т_Н), *см.* Т-хелперы (Т_Н)
 - CD8, 2427Т, **2427–2428**, 2428Р, *см. также* Цитотоксические Т-клетки (Т_С)
 - активация, 1092Р, 2367Р, **2413–2415**, 2415Т, 2442Р, 2443Р, **2443–2445**

- взаимодействие с белками МНС, **2410–2441**
- дополнительные рецепторы, 2427–2428
- интегрины, 1800, 1800P
- лимфатический узел, 2381P
- направление к мишеням, **2425–2427**
- общие свойства, **2363–2381**
- основные классы, 2367
- покоящиеся, 2368P
- поляризация цитоскелета в, 1607, 2417
- развитие, 2367P
- развитие Т-клеток, 2436, 2437, 2437P
- рестрикция класса МНС, **2425–2427**
- рециркуляция, 2379P, 2377–2381
- селекция в тимусе, **2434–2436**, 2437P
- структура, 2457P
- толерантность, неактивированные дендритные клетки, 2413
- узнавание антигенов, **2420**
- хелперные, *см.* Т-хелперы (Т_H)
- Т-лимфоциты (Т-клетки), *см.* Лимфоцит(ы); Т-клетки
- Т-независимые антигены, 2456–2457
- Т-петли, 448, 449P
- Т-хелперы (Т_H), 2411, **2418–2420**, 2431–2434, *см. также* CD4 Т-клетки; Т-клетки
- CD4 корецепторная роль, 2427–2428, 2428P
- активация В-клеток, 2418–2420, **2453–2456**
- иммунологический синапс, 2453Т
- переключение класса, 2408
- селекция в тимусе, 2434–2436, 2437P
- синтез цитокинов, 2456Т
- *ср.* выбор Т_{H1} и Т_{H2}, 2418P, 2446P, **2445–2448**
- тип 1 (Т_{H1}), 2418P, 2420, **2445**
- — активация дендритных клеток, 2446P
- — активация макрофагов, 2448–2449, 2449P
- — *ср.* Т_{H2}, 2418P, 2446P, **2445–2448**
- тип 2 (Т_{H2}), 2418P, 2420, **2445–2446**
- — активация В-клеток, 2456
- — активация дендритных клеток, 2446P
- — *ср.* Т_{H1}, 2418P, 2446P, **2445–2448**
- — цитокины, 2446
- узнавание антигена, **2431–2434**
- ТСГ, *см.* Транс-сеть Гольджи
- ТФА (тетрадеканоилфорболацетат), как промотор канцерогенеза, 1878
- Табак, микрофотография клеточной культуры, 779P
- Таймер сегментации, **2097–2099**
- Таксол, 1521, 1521P, 1521Т
- Талассемия, нарушения β-глобина, 444, 444P, 545P, 696
- Талин, 1795, 1795P
- Тандемная аффинная очистка (tap-tagging), 796–797
- Тандемная масс-спектрометрия, 801–805
- Таутомерный сдвиг, основания ДНК, 411, 413
- Твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA), 905–907
- Тейхоевые кислоты, 2341
- Теломераза, **448–451**, 780, *см. также* Обратные транскриптазы
- старение клеток и, 1699
- структура, 448P
- Теломеры, **448–451**
- мейотическая конъюгация гомологов и, 1948, 1948P
- повторы ДНК, 322
- — репликативная потеря, 449
- — эволюционный консерватизм, 448
- рак, 1866
- регуляция длины, 449–451
- — дрожжи, 449, 451P
- — роль в старении, 449, 1699
- репликация, 322, 322P, 448, 451P, *см. также* Теломераза
- — Т-петли, 448, 449P
- роль гетерохроматина, *см.* Гетерохроматин
- Телофаза, 1623, 1649P, **1674**
- сборка ядрышка, 557
- Тельца Барра, инактивация X-хромосомы, 730
- Тельца Кахаля, 368, 368P, 557–559, 560P, 915P
- Темнопольная микроскопия, 898
- Температура плавления, 828P
- Температурочувствительные мутации, 856, 856P, 1626, 1626P
- Теосинте, 2157, 2157P
- Тепловая энергия, 104–105, 107P, 183P

- коричневый жир, 1288
- ферментативный катализ, 115
- Тепловое движение, 75, 75P
- Тепловой шок, *см. также* Репарация ДНК
- белки (HSP), 597, *см. также* Шапероны; *конкретные белки*
- индуцированная соматическая рекомбинация, 2060
- Терапевтическое клонирование, 783, 783P, 785
- Терминальная дифференцировка, 1693, 2172
- Терминаторы, транскрипция, 517, 519, 520
- Термодинамика, 102–104, **183–184**, *см. также* Свободная энергия
- второй закон, 102–104, 183P
- первый закон, 104–105, 183P
- энтропия, 102–104, 104P
- Тестостерон, 1363P
- Тесты на комплементацию, 814P, 858
- Тетрадеканоилфторболацетат (ТФА), как промотор карценогенеза, 1878
- Тетраоксид осмия, приготовление образцов электронной микроскопии, 931, 931P
- Тетраспанины, 1983–1985
- Тетрациклин, 486P, 592T
- Тилакоидное пространство, 1295, 1295P
- Тилакоиды, 1104–1105, 1293–1295
- везикулы, формирование, 1073
- мембрана, 1095P, 1295, 1295P, 1308P
- транспорт белков, 1104–1105, 1105P
- Тимидин, радиоавтография с ³H-тимидином, 432–434, 436P, 927–928
- Тимин, 302
- образование димера, 454, 456P
- спаривание оснований, 303P
- структура, 181P, 462P, 509P
- Тимозин, модификация актиновых филаментов, 1532
- Тимус, 2364P, 2434–2436
- организация, 2434P
- органспецифичная экспрессия белков, **2437–2439**
- селекция Т-клеток, **2434–2436**
- Тип спаривания (дрожжи), 701–702
- Тиреоидный гормон, 1364, 1514T
- рецептор, 1365P
- Тирозин, структура, 195P
- Тирозинаминотрансфераза, регуляция экспрессии генов, 638
- Тирозинкиназа-связанные рецепторы, 1516, **1517**
- Тирозинкиназные рецепторы (RTK), **1516**, 1516P, 1516PP, 1516T, **1516**
- активация Ras-пути, **1516**, 1516P, 1516PP
- развитие животных, 2012P
- связывание SH2-доменов, **1516**, 1516P
- Тирозинкиназы, 267P, *см. также* Src семейство тирозинкиназ
- рецептор-связанные, *см.* Тирозинкиназные рецепторы (RTK)
- сигнализация через В-клеточный рецептор, 2442P
- сигнализация через Т-клеточный рецептор, 2442P
- Тирозинфосфатазы, **1517**
- Тироксин, 1363P
- Титин, 1577, 1577P
- Тканевая культура, **777–779**, *см. также* Клеточная культура
- исторические аспекты, 779
- спинного мозга, 779
- требования, **777–779**
- эксплантаты, 779
- Тканевые ингибиторы металлопротеаз (TIMP), 1829
- Тканевые срезы, методы микродиссекции, **776**, **777P**
- Тканевые эксплантаты, 779
- Тканевый активатор плазминогена (tPA), 1829
- Ткани, *см. также конкретные ткани*
- базальная мембрана, *см.* Базальная мембрана
- внеклеточные факторы, 1692, 1703
- восстановление, 1828, 2260
- изготовление срезов для микроскопии, 901, 901P, 931
- инженерия, 2262
- межклеточные взаимодействия, 1739–1740, 1740P, *см. также* Клеточная адгезия; Клеточные контакты; Внеклеточный матрикс
- — расслаивание, **1751–1753**, 1753P, 1755P
- — селективная адгезия, 1749P, **1749–1751**, 1751P

- обновление, **2168–2271**
- организация и поддержание, 1751
- перегруппировка в развитии, 1751–1753, 1753P, 1755P
- полярность, 1773
- разнообразие, 1739
- рост клеток и, 1692, **1700**
- соединительные, *см.* Соединительная ткань
- специализированные, **2168–2271**
- эксплантат, 779
- эпителиальные, *см.* Эпителий
- Ткани, окрашивание, 852–853, 892, 901P
- Токсины, 2287
 - бактериальные, *см.* Бактериальные токсины
 - механизм действия, 2287–2288
 - холера, 2285
- Токсины, влияющие на полимеризацию филаментов цитоскелета, **1521**, 1521T
- Толстой кишки рак, *см.* Кишечника рак
- Толстые филаменты, 1553P, *см. также* Миозин
- Томография, электронный микроскоп, 941P, 942, 942P
- Тонкий кишечник, гистология, 2197P, **2197–2207**
- Тонопласты, растительные вакуоли, 1200P
- Топоизомеразы, *см.* ДНК-топоизомеразы
- Топология ДНК, *см. также* Нуклеосома/ы
 - суперспирализация, *см.* Суперспирализация
 - элонгация транскрипции, 528P, **527–530**
- Тормозной постсинаптический потенциал (IPSP), 1057
- Тотипотентность, растительные клетки, 872
- Точечные мутации, 376
- Точка начала репликации (ориджин), 432P, 1640
 - авторизация, 1640
 - бактериальная, 432, 434PP
 - полуметилирование, 432, 436P
 - последовательности ДНК, 322, 431, 440, 442P, 444
 - связывание пререпликативного комплекса (pre-RC), 1640
 - синтез ДНК, 431–432
 - хромосомная, 321, 322P
 - эукариотические, 434, 438P
 - — *S. cerevisiae*, 440, 442P, 444P
 - — комплекс узнавания точки начала репликации (ORC), 442, 444P
 - — репликационные единицы, 434–436
 - — человека, 444
- Точка рестрикции (старт) клеточного цикла, 1623, 1632, 1639, 1696
- Транзиторные амплифицирующиеся клетки, 2175P, 2175–2179
 - преимущества, 2180–2182
 - стратегия контроля роста, **2177**
 - эпителий кишечника, 2199
- Транс-сеть Гольджи (ТСГ), 1183
 - пути сортировки белков, 1229P, 1239P
 - рецепторы M6P, 1204
 - сборка липидных рафтов, 1239, 1239P
 - структура, 1181P
 - транспорт, 1205P, **1196–1208**, *см. также* Экзоцитоз
 - функциональная компартментализация, 1194P
 - электронная микрофотография, 1181P
- Транс-сплайсинг, 544P, 544–545
 - SL РНП, 542, 544P
 - трипаносомы, 544, 544P
- Трансгенные организмы, **869–872**, *см. также* Нокауты генов
 - получение, **869–872**, 875P
 - — Cre/Lox система, 871–872
 - — сайт-специфическая рекомбинация, **497–498**
 - растения, **872–874**, 874, 875P
- Трансдукторы, 2187
- Транскрипционная аттенуация, 736–737
- Транскрипционное сопряжение репарации, 459–460
- Транскрипционные активаторы, 523, 525–527, 527P, **670**
 - механизмы, 671P
 - прокариотические, 644T, 646P, **670–671**, 671, 671P
 - — взаимодействие холофермента, 517P
 - эукариотические, 671P, *см. также* ДНК-связывающие мотивы (белковые), *см. также* РНК-полимераза II
 - — взаимодействия с репрессорами, 685, 687P

- коактиваторы, 685, 688Р
- образование комплекса, 688, 688РР
- структура, 679, 680, 680Р
- транскрипционный синергизм, 684Р, 684–685
- Транскрипционные единицы, 516, 736, *см. также* Ген(ы)
- Транскрипционные репрессоры, *см.* Репрессорные белки
- Транскрипционные сети, 707Р, 707–708, 708Р
- Транскрипционный контроль экспрессии генов, 582Р, 638, **665–736**, *см. также* РНК-полимеразы
- активаторы, *см.* Транскрипционные активаторы
- наследуемость, 705, 705Р
- прокариоты (бактерии), 671РР, 674–676, 676Р, 676Т, 736–737
- *Lac*-оперон, *см.* *Lac*-оперон (*Escherichia coli*)
- *ср.* эукариоты, 668–671
- регуляторные белки, *см.* Белки-регуляторы генов
- репрессоры, *см.* Репрессорные белки
- эволюция, 676–677
- эукариоты, *см. также* ДНК-связывающие мотивы (белковые); Факторы транскрипции, общие (TFII), *см. также* Промоторные элементы
- ТАТА-бокс, *см.* ТАТА-бокс
- аттенуация транскрипции, 737
- белки-регуляторы генов, *см.* Белки-регуляторы генов
- «действие на расстоянии», 674Р
- инсуляторы, 697
- контроль клеточного цикла, **1637**, 1695, 1695Р
- локус-контролирующие области (LCR), **693–696**, 696Р
- петлеобразование ДНК, 674Р
- промоторы, 520, 674Р, 677
- регуляторные элементы, 674Р, 677
- сложность, 668–671
- *ср.* прокариоты, 668–671
- транскрипционный синергизм, 684Р, 684–685, 715–717
- Транскрипционный сайленсинг, *см.* Сайленсинг генов
- Транскрипционный синергизм, 684Р, 684–685, 715–717
- Транскрипция, 5Р, **5–7**, 512Р, 514Р, **508–527**
 - гены рРНК, 554Р
 - инициация, 516–517, *см. также* Промоторные элементы
 - абортивная, 517Р
 - комплекс, 523–525
 - промоторы, 519–520
 - транскрипционные активаторы, *см.* Транскрипционные активаторы
 - чтение гистонового кода, 684Р
 - эукариотическая, 520, 523Р, 522–525, 527Р
 - направленность, 520, 520Р
 - ориентация РНК-полимеразы, 520, 520Р
 - основные принципы, 5Р, 508, **509–511**, 512, 512Р, 514–516, *см. также* Матричная РНК (мРНК)
 - прокариотическая (бактериальная), 517Р, 519Р, 516–520, 520Р, 530Р
 - РНК-полимераза, 516–517, 517Р
 - аттенуация транскрипции, 736–737
 - направленность, 520, 520Р
 - промоторы, 517, 517Р, 519Р
 - сигма-факторы, 516, 517Р
 - терминаторы, 517, 520
 - регуляция экспрессии генов, *см.* Транскрипционный контроль экспрессии генов
 - сигналы ДНК, **516–522**
 - гетерогенность, 519–520
 - консенсусные последовательности, 519Р, 519–520
 - промоторы, 517
 - скорость, 512, 517, 568
 - *ср.* репликация, 511
 - терминация, 517, 520
 - точность, 413, 512
 - универсальные принципы, **5–7**
 - элонгация, 528Р, **527–531**
 - эукариоты, 520, 523Р, 527Р, **520–531**, 614Р, *см. также* РНК-полимеразы, *см. также* Факторы транскрипции, общие (TFII)
 - РНК-полимеразы, 520, **520–522**, 522Т
 - инициация, 523Р, 527Р

- митохондриальная ДНК, 1323
- процессинг РНК, **530–531**
- элонгация, 527–530
- Транслоказа внешней мембраны митохондрий, *см.* ТОМ комплекс
- Транслоказа внутренней мембраны митохондрий, *см.* ТИМ комплекс
- Транслокаторы белков, **1097–1099**
- Транслокаторы фосфолипидов
 - апоптоз, 967
 - сборка липидного бислоя, 959, 1140–1143
 - скрамблазы, 967, 1141Р, 1141–1143
 - флиппазы, 1141, 1141Р
- Транслокации, хромосомные, *см.* Хромосомная транслокация
- Транслокация белков, 1080Р
 - в эндоплазматический ретикулум, *см.* Эндоплазматический ретикулум (ЭР)
 - через мембраны хлоропластов, **1104–1105**, *см. также* Хлоропласт(ы), импорт белков
 - через митохондриальные мембраны, **1095–1103**, *см. также* Митохондриальный импорт белков
- Трансляционное рекодирование, 589, 589, 590Р
- Трансляционные репрессоры, 753, 756Р
- Трансляционный контроль экспрессии генов, 582Р, 638, **753**, *см. также* Матричная РНК (мРНК)
 - негативный, 753, 756Р
 - распад мРНК, 759Р, **759–760**
 - регуляция инициации, 756Р, **754–757**
 - участок внутренней посадки рибосомы (IRES), **757**
 - цитоплазматическое полиаденилирование, **760**
- Трансляционный фактор терминации (eRF1), молекулярная мимикрия, 587Р
- Трансляция, 5Р, **5–10**, 508, 576Р, **562–589**, *см. также* Матричная РНК (мРНК); Белки, синтез; Рибосомы
 - вирусная РНК, 2324–2326
 - декодирование, 563, 563Р, *см. также* Генетический код; Транспортная РНК
 - адаптерные молекулы, 569, 570Р
 - рамки считывания, 565, 565Р
 - ингибиторы, 590, 592Т
 - инициация, **582–584**, 584Р
 - бактерии, 584, 753
 - вирусы, 2324
 - инициаторная тРНК, 584
 - инициаторный кодон, 584, 754–756
 - кэп мРНК, 2324
 - прокариоты, 2341
 - сигналы мРНК, 582
 - сканирование с подтеканием, 756
 - участок внутренней посадки рибосомы (IRES), **757**
 - факторы инициации (eIF), 584, 753–754, 756Р
 - формилметионин, 584
 - эукариоты, 584, 584Р, 751–753
 - исторические аспекты, 562–563
 - контроль качества, 587–589, 592–595, 595Р, *см. также* Нонсенс-опосредованный распад мРНК
 - основные принципы, 5Р, 5–10
 - регуляция, 754Р
 - регуляция экспрессии генов, *см.* Трансляционный контроль экспрессии генов
 - терминация, 586Р, **586**
 - точность, 413, 587
 - роль EF-Tu, 578–580
 - свободная энергия, 592
 - элонгация пептидной цепи, 572Р, 575, 576Р, *см. также* Белки, синтез
 - пептидилтрансфераза, 575–576, 582, 582Р
 - факторы элонгации, **578–580**
 - эукариоты, 530Р, 584, 584Р, 614Р
 - рибосомы, 553–554, 556–557, 573Р
 - Трансмембранные белки, 969–971, 971Р, *см. также* Порины; конкретные белки/типы
 - α -спиральная конформация, **972–974**, 974Р
 - α -спиральные взаимодействия, **974–978**
 - β -бочонок, 974, **978–979**, 979Р
 - адгезия клеток и матрикса, 1794, 1805Т, *см. также* Интегрин(ы)
 - водородные связи, 974
 - домены, 974
 - межклеточная адгезия, 1742Р, 1742–1744, 1744Т, 1771, *см. также* Кадгерин(ы)
 - многопроходные, 974, 978Р, 978РР, 1007, 1129Р, **1128–1131**

- однопроходные, 974, 980Р, 1126Р, **1126–1128**
- профиль гидрофобности, 974
- сборка, 978
- Трансмембранные белки адгезии, плотные контакты, 1771
- Трансмембранный регулятор муковисцидоза (CFTR), 1025
- Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЕМ), 930Р, **930–935**
- иммуноэлектронная микроскопия, 933, 935Р
- исследование свойств поверхностей, **936–938**
- — металлическое напыление, 936–938, 939Р
- микроскоп, 930Р, 930–931
- приготовление образца, 931Р, 931–933
- трехмерная реконструкция, 933, 935Р
- Трансплантат, реакция на, **2420–2421**
- Трансплантация ядра, 634, 636Р
- Транспозаза, 485, 486Р
- ДНК-транспозоны, 485, 486Т
- альтернативный сплайсинг, 741
- гены, 486Р
- Транспозиционная сайт-специфическая рекомбинация, *см.* Сайт-специфическая рекомбинация
- Транспозиция, 483
- ДНК-транспозоны, 486Т
- — механизм вырезания-вставки, 488, 489Р
- включение вируса в хромосому, 491Р
- механизм, *см.* Сайт-специфическая рекомбинация
- ретротранспозоны, 486Т
- ферменты, 486Т, *см. также конкретные ферменты*
- Транспозон(ы), 485, 2457, *см. также* Транспозаза; *отдельные элементы*
- ДНК-транспозоны, 485, 486Р, 486Т
- бактериальный геном, 486Р
- геном человека, 318Р
- гены β -глобина, 382Р
- инсерционный мутагенез, 814Р, 855
- классификация, 486Т
- механизм транспозиции, *см.* Транспозиция
- ретротранспозоны, 485, 486Т, *см. также* Ретротранспозоны; Ретровирус-подобные ретротранспозоны
- филогенетические вариации, мышь и человек, 494Р
- эволюционные перемещения, 494
- Транспорт белков, *см. также* Сортировка белков; Трансмембранные белки; Везикулярный транспорт
- воротный, 1076, 1077Р
- исследования, 1080Р
- между органеллами, **1074–1077**
- митохондрии, *см.* Митохондриальный импорт белков
- общий ток, 1077Р
- пероксисомы, *см.* Пероксисомы
- секреторный путь, **1151–1208**
- сигнальная гипотеза, 1115–1117, 1117, 1118Р
- хлоропласты, *см.* Хлоропласт(ы), импорт белков
- через мембраны, **1067–1149**
- эндоплазматический ретикулум, *см.* Эндоплазматический ретикулум (ЭР), транспорт белков
- ядро, *см.* Ядерно-цитоплазматический транспорт
- Транспортеры/транспортные белки, *см.* Белки-переносчики
- Транспортная РНК (тРНК), **8**, 9Р, 565–566, *см. также* Генетический код
- аминокислотирование, **568–569**, 569, 570Р, *см. также* Аминоацил-тРНК-синтазы
- — происхождение, 626
- — точность, 569–572
- — узнавание синтазы, 570Р, 570–572
- антикодоны, *см.* Антикодоны
- инициаторная тРНК, 584
- модификация, 565Р, 566, 566Р, 568Р
- пептидил-тРНК-рибосома, 575Р, 575–576
- связывание рибосомами аминокислот-тРНК, 575Р, 575–576
- структура, 565, 565Р, 568Р, 572Р
- транскрипция, 514–516, 1323
- функция, 516Т
- эволюционное значение, 626–627
- Транспортные везикулы, 1151, **1166**

- Трансфекция, векторы клонирования ДНК, 833–834
- Трансферин, рецептор, 1219
- Трансформаторы сигнала, 987
- Трансформация клеток, для онкогенов, 1887
- Трансформированный фенотип, раковые клетки, 782Т, 1887, 1888
- Трансформирующие факторы роста β (TGF β) семейство
- активация Smad-зависимого сигнального пути, **1517**, 1517P
 - ингибиторные сигналы, 1693, 1703, 1704P
 - кожа, 2182
 - миостатин, 2242
 - мутации с потерей функции, 1902
 - отсутствие у *Arabidopsis*, 2142
 - протеогликаны и, 1814
 - развитие *Drosophila*, 2042
 - развитие животных, 2012P
 - регуляторные Т-клетки, 2420
- Трансцеллюлярный транспорт, 1014–1015, 1015P
- Транцитоз, 1217, 1217P, 1223P, **1223–1225**
- IgA, 2388P
 - инсулиновый рецептор, 1225, 1225P
 - рециркулирующие эндосомы, 1225
 - транспортеры глюкозы, 1225
- Трансэпителиальный перенос, плотные контакты, 1768, 1768P
- Трансэтерификация, сплайсинг пре-мРНК, 533–534, 534P
- Тредмиллинг, **1520**, 1520PP
- Треонин, структура, 195P
- Триацилглицерины, 180P
- запасание жирных кислот, 90
 - запасание энергии, 149, 151P
 - структура, 152P, 179P
- Триггерный (flip-flop) переключатель, 704, 705P, 719
- Триглицериды, см. Триацилглицерины
- Тримерные GTP-связывающие белки (G-белки), см. G-белки (тримерные GTP-связывающие белки/АТРазы)
- Триозофосфатизомераза, 185P, 242P
- Триозы, 177P
- Трипаносомы
- изменчивость антигенов, 2327P, 2329
 - муха цеце, 2301
- Трипсин, методы выделения клеток, 776
- Триптофан, 195P, 667P
- Триптофановый оперон, 667P
- Триптофановый репрессор, 667P, 667–668, 668P
- мотив «спираль-поворот-спираль», 646P
 - «Тритон», растворимость мембранных белков, 982
- Трихотидистрофия, нокауты мышей, 872P
- Трицеллюлин, 1771
- Тройной snРНК, механизм сплайсинга, 538P
- Тройной ответ, растущий проросток, 1519, 1519P
- Тромбин, 239
- Тромбоцитарный фактор роста (PDGF), 1516P, 1516Т, 1692, 2205, 2219
- Тромбоциты, 1692, 1692P, 1800
- Тропомеозин, 536P, 741, 1524P, 1535
- Тропомодулин, 1693
- Тропоэластин, 1824
- Трубчатые черви, 20P
- Туберкул, 2310
- Туберкулез, 2278, 2310–2311, см. также *Mycobacterium tuberculosis*
- Туберкулезная гранулема, 2310
- Туберкулоидная проказа, 2446–2448
- Тубулин(ы), см. также Микротрубочки
- γ -тубулин, 1522, 1522P, 1530
 - Т-форма и D-форма, 1520
 - бактериальный гомолог, 1521
 - визуализация фотоактивации, 915–916, 916P
 - изоформы, 1521
 - полимеризация, временная зависимость, 1520P
 - сборка филаментов, **1520**
 - структура, 1520
 - эволюционный консерватизм, 1521
- Тургорное давление, 1199, 1834, 1837
- Тучные клетки, 2221, 2388
- секреция гистамина, 1234, 1234P, 2390P
 - секреция интерлейкинов, 2456Т
- Тяжелые изотопы, седиментационное равновесие, 789
- Тяжелые цепи (Н-цепи) антител, 237P, 2385P, **2384–2390**
- IgM, 2387P

- переменные домены, **2391–2393**, 2393P, 2395P
- постоянные домены, **2391–2393**, 2393P, 2395P
- набор сегментов генов, 2399P
- повторяющиеся домены, **2393**
- УФ, *см.* Ультрафиолетовое (УФ) излучение
- Убаин, влияние на натриево-калиевый насос, 1020
- Убиквитин, 603–605, 1136P
- Убиквитин-активирующий фермент, 605, 606P
- Убиквитинирование, гистоновые хвосты, 341P
- Убиквитинлигаза, 605, 606P, 609P, *см. также конкретные ферменты*
- SCF, 280–281, 281P, 286
- контроль клеточного цикла, 1636, 1637P, 1639T
- Убиквитиновый путь, **605–606**, 606P, 609P, *см. также* Протеасомы
- N-концевая деградация, 608–609
- активация, 605–606, 606P
- мечение белков, 608P
- протеасомы, 605–606
- убиквитин, 605, 1136P
- ферменты, 605, 606P
- Убихинон, *см.* Кофермент Q
- Угарный газ (монооксид углерода), как межклеточный сигнал, 1363
- Углеводороды, 169P, 961, 961P
- Углеводы, 85, *см. также* Полисахариды; Сахара
- биосинтез, 1296, *см. также* Фиксация углерода
- Углекислый газ (диоксид углерода, CO₂)
- метаболический синтез, 154–155, *см. также* Цикл лимонной кислоты
- накачка, фиксация углерода, 1299–1300
- фиксация, *см.* Фиксация углерода
- Углерод
- атомная структура, 69P
- двойные связи между, 169P
- компоненты клетки, 83–85
- углеродный скелет, 169P
- Углеродные двойные связи, 169P
- Удаление синапса, зависящее от электрической активности, 2132
- Удвоение генов, **27**, 28P, 58P, 376, *см. также* Генные семейства; Генетическая избыточность; Псевдогены
- в перетасовке белковых доменов, 210–212, 212P
- геном *Xenopus*, 55–56, 56P
- геномы рыбы данио, 390
- гены коллагена, 1817–1818
- скорости, 390
- судьба удвоенных генов, 390
- функциональное расхождение, 58P, 376, 388–390, *см. также* Генные семейства
- эволюция генома, 387–388
- эволюция позвоночных, **55–56**
- эволюция протеинкиназы, 266
- Узел, у растений, 2139P, 2150
- Ультрасанцентрифугирование
- очистка микросом, 1115
- препаративное ультрасанцентрифугирование, 788P, 788–789
- фракционирование клеток, **788–789**, 789P
- Ультрафиолетовое (УФ) излучение
- повреждение ДНК, 454, 456P, 457, *см. также* Повреждение ДНК; Репарация ДНК
- чувствительность, дефекты репарации ДНК, 453T
- Унипроты, 1011, 1011P
- Уотсон, Джеймс Д., 300
- Уран, окрашивание в электронной микроскопии, 933
- Урацил, 181P, 509, 509P, 511P
- Уреаза, 2303
- Уридин, изомеризация при модификации рРНК, 554, 556P
- Урогенитальный гребень, 1961
- Урокиназный активатор плазминогена, 1829
- Условная мутация, 814P
- температурочувствительная, 856, 888P, 1626, 1626P
- Условные патогены, 2281
- Устройство ввода-вывода («микрочипы»), протеинкиназы, 267P, 267–269, 271P
- Устьица, 1299
- Ухо, эмбриональное происхождение, 2116P, 2187
- Участок внутренней посадки рибосомы (IRES), 757P, **757**, 2324

- ФРН, *см.* Фактор роста нервов (ФРН, NGF)
 «Фабрика РНК», концепция, РНК-полимераза II, 531, 533P
- Фаголизосома, 2316P, 2316–2318, 2348–2350
- Фагосома, 1200–1202, 1208–1209, 2222, 2348–2350
- Фагоцитирующие клетки, 2350–2352, *см. также* Макрофаги; Нейтрофилы
- Фагоцитоз, 38, 39, 40P, 1204P, **1208–1211**, 1211, 1713, 2348P
- активируемый антителами, 2387, 2387P
 - дыхательный взрыв, 2350
 - индукция бактериями, 2311, 2313P
 - макрофаги, апоптоз, 1716
 - механизмы избегания, 2348–2350
 - патогенов, **2348–2350**, 2350
 - проникновение бактерий в клетку хозяина, **2310–2311**, 2311
 - процесс, 2348–2350
 - роль комплемента, 1209, **2343–2344**, 2344
 - электронные микрофотографии, 1209P
- Фаза, 895, 898
- Фазовая вариация, перестройки ДНК, 699–701, 701P, *см. также* Сайт-специфическая рекомбинация
- Фазово-контрастная микроскопия, 779P, 898
- Фазовый переход, мембраны, 961
- Фактор V, секреция из ЭР, 1177
- Фактор VIII, 534P, 1177
- Фактор деполимеризации актина, *см.* Кофиллин (фактор деполимеризации актина)
- Фактор некроза опухоли α (TNF α), 1518, 1518P, 2445, 2456T
- Фактор обмена гуаниновых нуклеотидов Ras (Ras-GEF), 1516, 1516P
- Фактор обмена гуаниновых оснований (GEF), 1373, 1373P
- Ras GEF, 271
 - активация RhoA, 1681
 - рециркуляция eIF2, 753–754, 756P
 - связь с микротрубочками, 1601–1603
 - формирование митотического веретена деления, 1659
 - функциональная роль, 271, 273P
- Фактор роста гепатоцитов (HGF), 2208
- Фактор роста нервов (ФРН, NGF), 1516, 1516P, 1516T, 1701
- Фактор роста фибробластов (FGF)
- FGF10 белок, в развитии легких, 2111–2113, 2113P
 - FGF8 белок, 2096
 - в ангиогенезе, 2217
 - связывание гепарансульфата, 1814
- Фактор роста эпителия сосудов (VEGF)
- межклеточные контакты и, 1759
 - роль в прогрессии опухоли, 1871
 - связывание внеклеточного матрикса, 1814
 - эндотелиальные клетки, 2216, 2217
- Фактор специфичности расщепления и полиаденилирования (CPSF), 548P, 548–550
- Фактор стимуляции расщепления F (CstF), полиаденилирование, 548P, 548–550, 743–744
- Фактор терминации трансляции, 586, 586, 587P
- Факторы инициации (эукариотические), *см.* eIF (эукариотические факторы инициации)
- Факторы обмена GTP, 578P
- Факторы роста, 1692, *см. также* Митоген(ы); *конкретные факторы*
- конкуренция за, **1703**
 - механизм действия, 1700, 1701P
- Факторы сборки хроматина (гистоновые шапероны, CAF), 446
- Факторы спаривания (дрожжи), 701–702
- Факторы транскрипции, общие (TFII), **522–525**
- взаимодействие с активатором, 674P
 - взаимодействие с репрессором, 685, 687P
 - инициация транскрипции, 523P
 - номенклатура, 522
 - связывание ТАТА-бокса, 523P, 522–525, 525P, 674P
 - функция, 522
- Факультативные интроны, 1323
- Факультативные патогены, 2281
- Фаллоидин, 1521, 1521T
- Фасцилин3, формирование синапсов, 1762
- Фенилаланин, структура, 195P
- Фенобарбитал, влияние на печень, 2209
- Фенол, очистка нуклеиновых кислот, 829
- Фенотип, 850, 852P
- анализ, 855–856, *см. также* Генетический скрининг
 - наследуемость, *см.* Геномный импринтинг

- Фермент(ы), 8, 96–98, **112–117**, 238–239, *см. также* Метаболические пути; *отдельные ферменты*
- катализ, *см.* Ферментативный катализ
 - классификация, 239, 239Т
 - коферменты/кофакторы, 251
 - механизм работы, 115Р
 - мультиферментные комплексы, 252–254, 254Р
 - переходное состояние, 241
 - регуляция, 256Р, 254–258, *см. также* Аллостерическая регуляция; Регуляция путем обратной связи
 - кооперативность, 260–261, 261Р
 - фосфорилирование, 264–266
 - сопряжение рецепторов, *см.* Рецепторы, сопряженные с ферментами
 - структура, 112
 - активный сайт, *см.* Активный участок (сайт)
 - регуляторные сайты, 256
 - тетраэдрический промежуточный продукт, 241
 - устойчивость к антибиотикам и, 2333, 2335Р
 - энергетика, 112–113
- Фермент-субстратные взаимодействия, 115, 247Р
- диффузия, 115, 117Р, 245
 - кинетические эффекты, 239–241, 244Р, *см. также* Ферментативная кинетика
 - лизоцим, 247Р, 247–249
 - связывание субстрата, 239–241, 247Р, 247–249
 - совместимость, 241
- Ферментативная кинетика, 239–241, **244–245**
- K_m , 241, 241Р, 244Р, 245
 - V_{max} , 239, 241Р
 - k_{cat} , 244Р, 245
 - график двойных обратных координат, 245
 - кинетика Михаэлиса–Ментен, 244, 244Р
 - скорости реакций, 239–241, 241, 242Р
 - ингибиторные лиганды, 261, 261Р
 - мультиферментные комплексы, 254
 - стационарное состояние, 244–245Р
 - число оборотов, 239–241, 244Р
- Ферментативный катализ, **239–254**
- аналогия плавающего шарика, 115Р
 - взаимодействие фермента и субстрата, *см.* Фермент-субстратные взаимодействия
 - диффузионно-лимитированный, 245, 245Т, 254
 - каталитические антитела, 241, 242Р
 - кинетика, *см.* Ферментативная кинетика
 - комплекс фермент-продукт, 247Р, 250, 250Р
 - лизосомальный катализ, 245–249
 - механизмы, 115Р, 239–241, 247Р, 250Р
 - молекулярное туннелирование, 251–252, 252Р
 - точки равновесия, 119, 123Р
 - энергетика, 112–113
 - свободная энергия, 112
 - тепловая энергия, 115
 - энергия активации, 112, 113Р, 241, 241Р
- Ферментные комплексы дыхательной цепи, **1260–1262**, **1277–1289**
- NADH-дегидрогеназный комплекс, 1279, 1281Р, 1285
 - идентификация, **1277–1279**
 - локализация, 1277–1279, 1281Р, *см. также* Митохондрии, структура
 - цитохромный $b-c_1$ комплекс, 1279, 1281Р, 1283–1285, 1285Р
 - цитохромоксидазный комплекс, 1281Р, 1279–1282, 1282Р
 - энергетика, 1260, 1260Р, 1283, 1283Р, *см. также* Протонные насосы
- Феромоны, 1515
- Ферредоксин, 1308, 1308Р
- Ферредоксин:NADP-редуктаза, 1308Р
- Фертильность, пониженная, 1988
- Фибрилларин, локализация в ядре, 560Р
- Фибриллин, 1824–1825
- Фибриллы, ассоциированные коллагены, 1817, **1820–1822**, 1822Р
- Фибриллярные белки, *см. также* конкретные белки
- базальная мембрана, 1788
 - внеклеточный матрикс, *см.* Внеклеточный матрикс
 - коллаген, *см.* Коллаген(ы)
- Фибриллярные коллагены, 1818Т, **1815–1822**, *см. также* Коллаген(ы)
- ср. ассоциированные с фибриллами, 1821–1822

- Фибрин, образование, 405
- Фбриноген, активация, фбринопептиды, 405
- Фибробласты
- в заживлении ран, 2244
 - дифференцировка и изменения, 715, 2244–2245
 - зрелые и незрелые, 2245
 - клеточная культура, фазово-контрастная микроскопия, 779P
 - организация внеклеточного матрикса, 1822
 - организация микротрубочек, 1609P
 - ползание клеток, 1590
 - репликативное старение, теломерные повторы, 449
 - синтез внеклеточного матрикса, 1179., 1808P
 - трансформация
 - в жировые клетки, 2257P
 - в хрящ и кость, 2245–2250
 - трансформация хондроцитов в, 2245–2247
 - функции, 2244–2245
- Фибронектин, **1825**
- базальная мембрана, 1788
 - белковые модули, 212P
 - ген, 1825
 - растворимая форма, 1825
 - сборка фибрилл
 - интегрины и, 1826
 - эффекты натяжения, 1826P, **1825–1828**, 1828P
 - связывание интегрин через мотив RGD, **1828**
 - соединительная ткань, 1821
 - структура, 1825, 1826P
 - фибронектиновый повтор типа III, 1825, 1828
- Физическое картирование генов, 861, 861P
- Фиксация
- азота, **20**, 23P, 157
 - приготовление образцов в микроскопии, 901, 931, 931P
 - углекислого газа, *см.* Фиксация углерода
- Фиксация азота, **20**, 23P, 157
- Фиксация углерода, **20**, 107
- CO₂ (углекислый газ), **20**, 1296–1298
 - NADPH, 1298, 1298P
 - гидролиз АТФ, 1298, 1298P
 - накачка CO₂, 1299–1300
 - реакции, 110P, 1298P, **1296–1300**
 - рибулозобисфосфаткарбоксилаза, 1296, 1296P
 - хлоропласты, 107, **1295–1302**
 - цианобактерии, 1290, **1337–1340**
 - эволюция, **1336–1340**
- Филаггрин, 1542
- Филадельфийская хромосома, при хроническом миелоидном лейкозе, 1853, 1853P, 1928, 1928P
- Филаменты цитоскелета, 996, 998P, **1519–1620**, *см. также* Актин/Актиновые филаменты; Промежуточные филаменты; Микротрубочки
- динамическое поведение, **1519–1521**, 1537–1538
 - кэпирование, 1538, 1538P
 - организация, 1542–1546
 - поведение, 1068, **1519**
 - поперечная сшивка, 1535, 1542–1546
 - регуляция нуклеации, **1522–1550**
 - сборка/формирование, *см. также* Полимеризация актина
 - вызываемые токсинами изменения, **1521**, 1521T
 - кинетика, 1520
 - нуклеация, 1520, 1520P, 1522
 - самосборка, **1520**
 - скорость добавления субъединиц, 1519–1521
 - субъединицы, **1520**
 - стабилизация, 1535–1537
 - стехиометрия субъединиц, 1537–1538
 - удлинённые, 1520, 1520P
- Филамин
- потеря, неправильная подвижность клеток, 1546, 1548P
 - упаковка актиновых филаментов, 1524P
 - формирование сети актиновых филаментов, 1546–1548
- Филогенетический футпринтинг, 663, 663P
- Филогенетическое дерево, 24P, 378, 378P, 379
- Филоподии, 1543, 1591
- ангиогенез, 2217

- наведение нейронного конуса нарастания, 1610, 2122, **2122–2125**
- нуклеация актиновых филаментов, 1527
- Фимбрии (пили), 2281P
- Фимбрин
 - поперечная сшивка актина, 1545, 1545P
 - упаковка актиновых филаментов, 1524P
- Фитохром, **1519**, 1519P, **1519**, 1519P
- Флагеллин, 1585
- перестройки генов, 699–701, 701P
- Флиппазы фосфолипидов, сборка липидного бислоя, 1141, 1141P
- Флора, нормальная микробная человеческо-го организма, 2275, 2300
- Флуоресцеин, 902–904
- Флуоресцентная аналоговая цитохимия, 920
- Флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), хромосомные пуфы, 365
- Флуоресцентная микроскопия, **902–907**
 - анализ экспрессии отдельной клетки, 886
 - иммунофлуоресценция, 904P, 905P, **905–907**, 907P
 - квантовые точки, 904, 905P
 - конфокальная, 910P, **908–911**, 911P
 - микроскопы, 902, 902P, 910P
 - наночастицы, 904, 905P
 - полного внутреннего отражения (TIRF), 922, 924P
 - применение, 904
 - флуоресцентные красители, 902–904, 904P
- Флуоресцентные красители, 902–904, 904P
- Флуоресценция, 902
- Фокальные контакты, 1741T, 1742, 1744T, 1795, 1803P, 1803–1805
- Фолдинг (сворачивание) белков, 191, **595–600**, 2295–2297
 - *N*-связанное гликозилирование, роль, 1132P, 1147P
 - ERp57, роль, 1135P
 - ЭР, **1131**
 - гликозилтрансфераза, роль, 1135, 1135P
 - кальретикулин и кальнексин, 1133–1135
 - контроль качества, **600–602**, 602P, **1177–1178**
 - котрансляционный, **595–597**, 597P
 - наблюдение, 1133–1135
 - нековалентные взаимодействия, 99, 99P, 191–192, 197P
 - ненормальное, 602, 602P, 611–612
 - неправильно свернутые белки, 1136P, **1135–1137**
 - ограничения, 191
 - повторное сворачивание, 198, 198P, 602, 602P, *см. также* Шапероны
 - прионные белки, 2295–2297, *см. также* Прионные белки (PrP)
 - пути, 597P
 - расплавленная глобула, 595–597, 597P
 - роль боковых цепей аминокислот, 197, 197P
 - связь с синтезом, 595
 - создание участка связывания, 232P
 - шапероны, **597–600**, 600P, **1133–1135**, 1135P, 1177, *см. также* Шапероны
 - энергетика, **197–198**
- Фолликулостимулирующий гормон (FSH), 1975
- Фолликулы лимфатического узла, 2379, 2381P
- Фолликулярные клетки, 1972P, 1972–1973
- Фоллистатин, 1517
- Форболовые эфиры, как промоторы канцерогенеза, 1878
- Формальдегид, фиксация тканей, 901
- Формилметионин, 584, 2340, 2348
- Формин, 1524P, 1530, 1532P, 1534P, 1679
- Фосфат, реакции переноса, 126, 133P, *см. также* АТФ (аденозинтрифосфат, АТФ); Протеинкиназы; Протеинфосфатазы
 - гликолиз, 143, 145P
 - дефосфорилирование, 266, 266P
 - фосфорилирование, *см.* Фосфорилирование
- Фосфатазы, *см.* Протеинфосфатазы
- Фосфатидилинозитид-3'-киназа (PI3-киназа), **1516–1517**, 1517
 - внеклеточная сигнализация, 967, 967P
 - организация актина, 1601P, 1606
 - факторы роста, 1700, 1701P
- Фосфатидилинозитол (PI), 967, 1140, 1222–1223, 1515P, 1517
- Фосфатидилинозитол-3,4-бисфосфат [PI(3,4)P₂], 1550
- Фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат [PI(4,5)P₂], 1515P, 1515PP, **1515**

- Фосфатидилинозитол-4-фосфат [PI(4)P], 1515P
- Фосфатидилинозитол-специфическая фосфолипаза C, 971
- Фосфатидилсерин, 954, 955P, 965, 1209, 1716
- Фосфатидилхолин, 954, 955P, 1140, 1140P
- Фосфатидилэтаноламин, 954, 955P, 1140
- Фосфатные группы, 171P, 264
- Фосфатные связи, 171P
- фосфоангидридные связи, 95, 146P
 - фосфодиэфирные связи, 95–96, 146P
 - энергия связи, 146P
- Фосфоангидридные связи, 95, 146P
- Фосфоглицераткиназа, 143, 186P
- Фосфоглицератмутаза, 186P
- Фосфоглицерид(ы), 954, 955P, **954–956**, 956, *см. также конкретные молекулы*
- Фосфоглюкозоизомеразы, 185P
- Фосфодиэстераза, эксцизионная репарация оснований, 459P
- Фосфодиэфирные связи, 95–96, 146P, 305P
- Фосфоенолпируват, 186P
- Фосфоинозитид-зависимая протеинкиназа 1 (PK1), 1517
- Фосфоинозитидкиназы, 1161, 1161P
- Фосфоинозитиды, *см. Инозитолфосфолипид(ы)*
- Фосфоинозитол (PI), 1161, 1161P
- Фосфоинозитолкиназы, 1161, 1161P
- Фосфолипаза C (PLC), 1515P, **1515**, 1985
- Фосфолипазы, 967, *см. также конкретные фосфолипазы*
- Фосфолипид(ы), 12, 954, *см. также конкретные молекулы*
- агрегаты, 180P
 - амфифильные молекулы, 90–91
 - белки-обменники, **1143**
 - биосинтез, 90, 1329–1330
 - бислои, 91P, 623–624, 626P, *см. также Липидный бислой*
 - клеточные макромолекулы, 96P
 - липидные капли, **964–965**, 965
 - свойства, 956
 - синтез, ЭР, 1140–1143
 - скрамблаза, 1143
 - состав мембран, 954–956
 - структура, 90–91, 91P, 91, 179P, 954
 - флиппазы, 1141, 1141P
- Фосфор-32, мечение ДНК, 823
- Фосфорилирование
- белков, *см. Фосфорилирование белков*
 - каскады, **1371**
 - нециклическое фотофосфорилирование, *см. Нециклическое фотофосфорилирование*
 - окислительное, *см. Окислительное фосфорилирование*
 - опосредованное АТФ, 133P
 - *ср.* связывание GTP, 273P
 - «хвосты» гистонов, 340, 341P
- Фосфорилирование белков, **264–269**
- АТФ как донор фосфата, 133P
 - GTP-опосредованное, *см. GTP-связывающие белки (GTPазы)*
 - белки-регуляторы генов, 693, 694P
 - влияние на функционирование, 264–266, 283–285, 285P
 - обмен GTP и GDP как альтернатива фосфорилированию, 269–271
 - регуляция белком Rb, 1695
 - участок фосфорилирования как сигнал для связывания белков, 264–266
 - ферменты, 266, 266P, *см. также Протеинкиназы; Протеинфосфатазы*
 - циклы фосфорилирования, 267
 - энергетика, 267
- Фосфотирозин-связывающий домен (РТВ-домен, РТВ-сайт), 1514, 1514P
- Фосфофруктокиназа, 185P
- Фотоактивация, 915–916, 916P, 916, 918P
- Фотобелки, 1519
- Фотодыхание, 1299–1300, *см. также Фиксация углерода*
- Фоторецепторы (фоторецепторные клетки), 1515P, 2187, **2191–2192**, 2192P, 2192, 2192P, *см. также Колбочки (фоторецепторы колбочек); Палочки (фоторецепторы палочек)*
- Фотосинтез, 107–108, 1296P, **1290–1305**, 1305P, 1305, 1305P, 1312, *см. также конкретные компоненты*
- бактерии, 1290, 1323, **1336–1340**, 1340, *см. также Цианобактерии; Пурпурные бактерии*

- нециклическое фотофосфорилирование, *см.* Нециклическое фотофосфорилирование
- связь с дыханием, 108, 108P
- транспорт электрона (световые реакции), *см.* Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь
- уравнение, 108
- фиксация углерода (темновые реакции), *см.* Фиксация углерода
- фотосистемы, *см.* Фотосистемы
- фотохимия хлорофилла, 1300P, 1300–1302, 1302P, 1302, 1302P, *см. также* Хлорофилл(ы); Фотосистемы
- хлоропласты, 1296P, **1295–1302**, 1302
 - нециклическое фосфорилирование, 1308PP, **1305–1310**, 1310
 - протондвижущая сила, 1310–1311
 - циклическое фосфорилирование, 1310
 - электронный транспорт, *см.* Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь
 - циклическое фосфорилирование, 1310
 - эволюция, 1290–1292, 1310
 - бактерии, **1336–1340**, 1340
 - энергетика, **105–108**, 108
- Фотосинтезирующие организмы, 1290
 - бактерии, 1290, 1323, *см. также* Цианобактерии; Пурпурные бактерии
 - эволюция, **1336–1340**, 1340
 - растения, *см.* Растения
 - эволюция, 1290–1292, **1336–1340**, 1340
- Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь, 1272P, **1295–1296**, 1296P, 1296, **1303–1305**, 1305P, 1305, 1308P, 1337P, *см. также* Фиксация углерода; Хлоропласт(ы)
 - Z-схема, 1308
 - водоокисляющий фермент, 1306, 1308P, 1337
 - окислительно-восстановительные потенциалы, 1308P, 1310
 - реакционные центры, 1302–1305, 1305P, 1305, 1305P
 - *ср.* митохондриальный электронный транспорт, 1254P, 1310–1311, 1312P
 - через тилакоидную мембрану, 1308P, *см. также* Тилакоиды
 - эволюция, **1336–1340**, 1340
 - электронные переносчики, 1308P, 1305–1310
- Фотосинтетические реакционные центры, 1302, 1303P, 1311P
 - бактериальные, 988, 988P
 - комплекс фотосистемы II, 988
 - окислительно-восстановительные потенциалы, 1308P
 - электронный транспорт, 1303–1305, 1305P, 1305
- Фотосистемы, **1302**, *см. также* Хлорофилл(ы); Цитохром(ы)
 - антенный комплекс, 1302, 1302P
 - бактерии, 1305P, 1310, 1311P
 - окислительно-восстановительные потенциалы, 1308P, 1310
 - реакционные центры, *см.* Фотосинтетические реакционные центры
 - светособирающие комплексы, 1302, 1302P
 - структурные отношения, 1310
 - фотосистема I, 1306–1308, 1308P, 1308, 1310, 1311P
 - фотосистема II, 1306, 1306P, 1308P, 1310, 1311P
 - эволюция, 1310
 - электронный транспорт, *см.* Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь
- Фототропизм, 1519
- Фототропин, **1519**
- Фототрофы, 18
- Фотохимические реакционные центры, 1302, 1303P, 1311P
 - бактериальные, 1305, 1305P, 1310–1311
 - фотосистема I, 1311P
 - электронный транспорт, 1303
- Фрагменты Оказаки, 409–410, 411P, 416, 431P
- Фрагмопласт, цитокинез у высших растений, **1685–1686**, 1686
- Фракционирование клеток, **788–791**, *см. также* Анализ белков
 - бесклеточные системы, *см.* Бесклеточные системы
 - лизис клеток, 788
 - разделение макромолекул/органелл, **788–789**, 789P
 - митохондрии, 1257P

- ультрацентрифугирование, 788P, **788–789**, 789P, 791P
- хроматография, **791–794**
- электрофорез, 798, 800P, 804–805
- Фруктовая мушка, *см. Drosophila melanogaster*
- Фруктоза, структура, 177P
- Фруктозо-1,6-бисфосфат, 185P
- Фруктозо-6-фосфат, 185P
- Фугу, рыба (*Fugu rubripes*), 42, 44P, 384P
- Фумараза, 188P
- Фумарат, 187, 188P
- Функциональная геномика, меченые нуклеотиды, **874–877**
- Функция рассеяния точки, 908
- Футпринтинг ДНК, 661P, 660–663
- Хантера синдром, 1205
- Хантингтин, сравнение последовательностей, 384P
- Хантингтона болезнь, 611, 1002
- Хвостовая область, *см. Fc-область*, молекула антитела
- Хебба правило, 2135
- Хемиосмотическое сопряжение, **1248–1251**, 1251P, *см. также* Электрон-транспортные цепи
- бактериальное, 1289P, **1289–1290**
- синтез АТФ, 1257–1260, 1260P, *см. также* Синтез АТФ
- Хемокин(ы), 2351–2352, 2379P, 2379–2381
- в воспалительном ответе, 2223–2224
- протеогликаны и, 1814
- рецептор, связывание ВИЧ, 1174P
- Хемотаксис, **1604**, 1751
- бактериальный, 1517P, **1517–1518**, 1518P
- направление конуса нарастания, 2123, 2123P
- нейтрофилы, 1604, 1604P
- отрицательный, 1751
- Химерные белки, белки-активаторы транскрипции, 680P
- Химеры, мыши, 2110, 2110, 2111P
- Химическая биология, 813
- Химические группы, 171P
- Химические реакции, свободная энергия, 117P
- Химические связи, 73P, **69–77**, 169P
- носители энергии, 95, 107P, *см. также* АТФ (аденозинтрифосфат, АТФ)
- электронные взаимодействия, 69–71
- Химический синапс, 1049, 1051, *см. также* Нервно-мышечное соединение; Нейромедиатор(ы)
- ацетилхолиновые рецепторы, 1051
- возбуждающие, **1051**
- клеточная сигнализация, 1352
- механизм действия, 1050P
- тормозные, **1051**
- Химотрипсин, 207P, 217P
- Хинон, 1279P, 1283, 1306, 1308P
- Хиппеля-Линдау болезнь (VHL), 2217
- Хлорамфеникол, 590, 592P
- Хлорные каналы, 1025, 1036, 1037P
- Хлоропласт(ы), 42P, **1290–1312**, *см. также* Хлорофилл(ы)
- β -бочонковые белки, 979
- бесклеточные системы, 789
- биогенез, 1314, 1314P, 1329
- биосинтетические реакции, 1312
- генетическая система, 1332P, **1330–1334**
- геном, **1314–1334**, *см. также* Неменделевское наследование
- высшие растения, **1323–1324**, 1519P
- гены, 1323, 1324P
- интроны, 1323
- мозаицизм и, 1327, 1327P
- мутанты, 1329
- наследование от матери, 1327P, **1327**
- перенос генов, 1324
- печеночный мох, 1324P
- разнообразие, 1315P, **1318**
- репликация, 1317
- число копий, 1317
- эволюция, **1318–1319**, **1330–1334**
- гликолиз, 1311–1312
- гранулы крахмала, 148P, 149, 1292, 1293P
- импорт белков, **1104–1105**, 1105P
- кодируемые в ядре тканеспецифичные белки, 1329
- превращение энергии, 1293
- развитие, 1073, 1074P
- распределение при цитокинезе, 1686
- рост и деление, 1315–1317
- синтез белков, 1314P, 1314–1315, 1332P
- синтез липидов, 1329

- ср. митохондрии, 1293–1295, 1295P
- структура, 1095P, 1293P, **1293–1295**, 1295P
- сходство с бактериями, 1315, 1323
- транспорт, **1311–1312**
- фотосинтез, см. Фотосинтез
- функция, 1068
- эволюционное происхождение, 41, 44P, 1290–1292, **1318–1319**, 1338, 1340P
- перенос генов из органеллы в ядро, 1318–1319
- поддержание, **1330–1334**
- эндосимбиотическая гипотеза, 1318–1319, 1323–1324
- электронный транспорт, см. Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь
- Хлорофилл(ы), 1302P, см. также Хлоропласт(ы)
- фотохимия, **1300–1302**, 1302P, 1303P, 1303–1305, 1305P, см. также Фотосинтез; Фотосистемы
- Хлорохин, устойчивость *Plasmodium falciparum*, 1025
- Холера
 - передача, 2283
 - токсин, 969, 1514, 2285, 2287, 2304
- Холестерин
 - биосинтез, 131P, 1140–1143, 1214
 - мембраны, 956, 961
 - структура, 956, 956P, 956PP
 - транспорт, см. Липопротеины низкой плотности (LDL)
- Холецистокинин, в энтероэндокринных клетках, 2199
- Холин, 179P
- Холлидея структура, 476, 550
 - изомеризация, 476P
 - конверсия генов, 476, 480–482
 - миграция точки двойного ветвления, 477, 477P
- «Хоминг»-рецептор, лимфоциты, 2379
- Хондробласты, синтез внеклеточного матрикса, 1808
- Хондродисплазии, 1820
- Хондроитин сульфат, 1808, 2123
- Хондрома, определение, 1850
- Хондросаркома, определение, 1850
- Хондроциты, 2245–2247, 2247P
- Хордин, 1517, 2042
- Хордовые, 2094
- Хроматиды, см. Сестринские хроматиды
- Хроматин, 310, 560P, см. также Структура хромосом; Геном(ы); Нуклеосома/ы
 - гетерохроматин, см. Гетерохроматин
 - иммунопреципитация, 663–665, 665P
 - конденсация, 371, 440, 444, 1645, см. также Конденсация хроматина; Гетерохроматин
 - перестройка, см. Перестройка хроматина
 - расположение в ядре, 365P, 365–367, 367, 368P
 - структура, см. Структура хроматина
 - упаковка, 371, 373P
 - факторы сборки хроматина (CAF), 446
 - эухроматин, 337
- Хроматография, 792P, **791–794**, 823P, см. также Очистка белков; конкретные типы
- Хромокинезины, 1653
- Хромомеры, 358, 359P
- Хромопласты, развитие, 1074P
- Хромосома/ы, 299–300, **310–315**, 852P, см. также Цитогенетика; Кариотип; отдельные хромосомы
 - анализ, 299P, 300, 300P, 310–311, 311P, 311PP, 363PP, 438P, 823, 825P, 908P, см. также конкретные техники
 - аутосомы, 1944, 1962P
 - бактериальные, 310, 432, 434P, 2283P
 - биологические функции, 313
 - гомологичные, см. Гомологичные хромосомы (гомологи)
 - история исследования, 299–300
 - «ламповые щетки», 358, 358P, 1968
 - митотические, см. Митотические хромосомы
 - ненормальные, см. Хромосомные нарушения
 - перестройки, 1886, см. также Хромосомные нарушения; конкретные перестройки
 - политенные хромосомы, см. Политенные хромосомы
 - половые хромосомы, см. Половые хромосомы
 - пуфы, **337–340**, 365, 365P, см. также Политенные хромосомы

- различия между видами, 313–315
- репликация, *см.* Репликация хроматина
- содержание генов, 313Р, 313–315, *см. также* Геном(ы)
- структура, *см.* Структура хромосом
- упаковка, 1643, *см. также* Хроматин; Конденсация хромосом; Структура хромосом
- ДНК, **310–334**, 336
- постмитотические хромосомы, 1674
- человека, 310, 311Р, 311РР, *см. также* Геном человека
- организация генов, 315Р
- скорость репликации, 434
- *ср.* мыши, 381Р, 381–382
- точки начала репликации, 442–444
- транслокация хромосомы, 18, 313Р
- хромосома, 32, 315Р, 317Т
- эволюция, 318, 319Р
- эволюция хромосомы, 3, 319Р
- Хромосомная нестабильность, 1866, *см. также* Генетическая нестабильность
- Хромосомная транслокация, 814Р
 - репарация ДНК, гомологичная рекомбинация, 484
 - роль в раке, 1928
 - транслокация, активирующая ген *Мус*, 1897
 - филадельфийская хромосома при хроническом миелоидном лейкозе, 1853, 1853Р, 1928, 1928, 1929Р
 - хромосома 12 и, 313Р
 - эволюция генома, 376–378
- Хромосомные делеции
 - роль в раке, 1890–1893, 1893Р
 - эволюция генома, 376–378
- Хромосомные нарушения, *см. также конкретные типы*
 - анализ, *см.* Цитогенетика; Кариотип
 - мейотические ошибки, **1954–1956**
 - рак, 1863Р, 1886, 1919Р
- Хромосомные полосы, 310–311, 311РР, 363РР
- Хромосомные пuffs, 337–340, 365, 365Р, *см. также* Политенные хромосомы
- Хромосомный кроссинговер, *см.* Гомологичная рекомбинация (кроссинговер)
- Хромоцентр, политенные хромосомы *Drosophila*, 363Р
- Хронический миелоидный лейкоз, 1853, 1853Р, 1856, 1867, 1928, 1928, 1929Р
- Хрящ, 2245–2247
 - восстановление костей, 2250
 - замещение костью, 2249–2250, 2250Р
 - клетки, 2244–2247, 2247Р, *см. также* Хондроциты
 - минерализация, 2250
 - «модели» в развитии костей, 2249, 2250Р
 - рост, 2245–2247
 - нарушения при ахондроплазии, 2250–2252, 2252Р
 - эрозия остеокластами, 2252–2253
- Хурлера синдром, 1205
- ЦСГ, *см.* Цис-сеть Гольджи (ЦСГ)
- Цветковые растения, *см.* Растения
- Цветок, 2143Р
 - развитие, 2160, **2160–2161**
 - спецификация гомеозисными селекторными генами, 2161Р
- Цезий хлорид, градиенты, 789
- Целлюлаза, структура белка, 816Р
- Целлюлоза
 - клеточная стенка у растений, 1810, 1832, **1834–1835**, 1835Р, 1837Т
 - микротрубочки и отложение, 1838Р, 1840Р, **1838–1842**
 - контроль ориентированного роста растительных клеток, **2149**
 - микрофибриллы, **1834–1835**, 1835Р
 - направление роста и, 1837Р, 1837–1838
 - перекрестно сшивающие гликаны, 1832, 1835, 1835Р, 1837Т
 - структура, 1834, 1834Р
- Целлюлозосинтазный комплекс, 1837–1838, 1840
- Целлюляризация, 1688
- Целующиеся шпильки, структура РНК, 620Р
- Центр инактивации X-хромосомы (ХИС), 731
- Центр организации микротрубочек (МОС), 1522, *см. также* Центросома
- Центральная догма, 508
- Центральная нервная система (ЦНС), *см. также* Нервная система
 - апоптоз, 1713–1714
 - восстановление, 2262

- клетки-предшественники, 2120P
- происхождение в раннем зародыше, 2090P
- чувствительность агрегации белков, 611
- Центральный лимфоидный орган, 2364P, 2367, 2367P
- Центрифугирование, 788P, **788–789**, 789P, 791P
 - коэффициент седиментации, 789, 805
 - определение молекулярной массы, 805–807
- Центрифугирование в градиенте плотности, 789, 791P, 805
- Центромера/ы, **349–352**
 - пластичность, 350–352, 352P
 - последовательность ДНК, 322, 350–352
 - репликация хромосом, 321–322, 322P, 1652, 1652P
 - структура, 350P, 350–352
 - структура хроматина, 353P, 353–356, *см. также* Хроматин
 - гетерохроматин, 349–350, 355P
 - гистоны, CENP-A разновидность H3, 352–353, 355P
 - запоминающие цепи, 353, 356P
- Центросома, 1652, 1652P
 - микротрубочки, выходящие из, **1522–1527**
 - переориентация, клеточная локомоция, 1606
 - «поиск и захват» хромосом, 1661, 1664P
 - поиск центра, 1527P
 - созревание, 1656
 - состав, 1522
 - удвоение и сборка веретена деления, 1655P, **1655**, 1656
- Цепи регуляции генов, математическое моделирование, 50, 50P
- Церамид, биосинтез, 1141–1143
- Цеце муха, 2301
- Цианид, связывание с цитохромоксидазой, 1282
- Цианобактерии
 - в древе жизни, 24P
 - фотосинтез, 1272P, 1290
 - эволюционное значение, **1338–1340**
- Цикл Кальвина, *см.* Цикл фиксации углерода
- Цикл Кребса, *см.* Цикл лимонной кислоты
- Цикл азота, **157–158**
- Цикл лимонной кислоты, 152–155, 160P, 1257
 - образование электронов, **1257**
 - путь, 154P, 187P, **187–188**, 188P
- Цикл мочевины, митохондрии, 1329
- Цикл трикарбоновых кислот, *см.* Цикл лимонной кислоты
- Цикл фиксации углерода, 110P, 1298P, **1296–1300**
- Циклин(ы), 1633
 - APC/C и, 1670
 - Cdk комплексы, *см.* Циклин-Cdk комплексы
 - G₁-циклины, 1633
 - G₁/S-циклины, 1633
 - S-циклины, 1633, 1636, 1670
 - M-циклины, 608, 1633, 1636, 1650, 1670, 1691
 - дрожжи, 1635P
 - интеграция сигналов, 267P, 267–269
 - позвоночные, 1635P
 - циклические изменения, 1633, 1635
 - экспрессия генов, 1691
- Циклин-Cdk комплексы, 267P, 267–269, 1633, 1633P, 1635P, *см. также* Циклин(ы); Циклин-зависимые киназы (Cdk)
 - G₁-Cdk, 1633, 1639, **1693–1696**
 - G₁/S-Cdk, 1633, 1639, **1693–1696**
 - M-Cdk, 1633, 1639
 - активация дефосфорилированием, 1650P, **1650–1651**
 - вход в митоз, **1646**, **1650**
 - динамика микротрубочек и, 1658
 - роль сборки веретена деления, **1655–1656**, 1656P, 1658
 - S-Cdk, 1633, 1639, **1640–1643**
 - механизм работы, 1633P, 1633–1635
 - связывание SKI, 1635–1636
- Циклин-зависимые киназы (Cdk), **1633–1635**, *см. также* Серин-треониновые киназы; конкретные киназы
 - G₂/M контрольная точка, 1962
 - активация дефосфорилированием, 117P, 267, 1635, 1635P, 1639T, 1650P, **1650–1651**
 - активация/ингибирование
 - G₁-фаза, **1689–1691**
 - фосфорилирование, **1635–1636**, 1636P, 1639T

- дрожжи, 1633, 1635P
- комплексы с циклинами, *см.* Циклин-Cdk комплексы
- позвоночные, 1633, 1635P
- регуляция, 267–269
- циклические изменения активности, 1633
- эволюция, 267P
- Циклический АМР (сАМР, цАМФ), 182P, 1514P, 1514Т, 1514–1515
 - активация генов, 1515P
 - действие бактериальных токсинов, 2303
 - регуляция РКА, 1514, 1514P
 - регуляция, G-белок, 1514
 - синтез и распад, 1514, 1514P
 - циклический АМР-управляемые каналы, 1515
- Циклический АМР-фосфодиэстеразы, 1514, 1514P
- Циклический АМР-чувствительный элемент (CRE), 1514
- Циклический GMP (сGMP)
 - ответ на NO, 1360, 1361P
 - фоторецепторы, 1515, 1515P
 - циклический GMP-управляемый Na⁺-канал, 1515
- Циклический GMP-фосфодиэстераза, 1515
- Циклический нуклеотид-управляемые ионные каналы, 1515
- Циклическое фотофосфорилирование, 1310
- Циклогексимид, 590, 592Т
- Циклосома, *см.* Анафаза-стимулирующий комплекс (APC/C)
- Цинга, 1818
- Цинковая протеаза, летальный токсин, 2287
- Цинковые пальцы, белки, **648–649**, 649P, 651P
 - ДНК-связывающие, 649P
 - повторы цинковых пальцев, 648
 - специфичность последовательности, 657P
 - структура, 648, 649P
 - типы, 648–649, 649P, 651P
- Цинковые пальцы, мотив, 648, **648–649**, 649P
- Циркадные часы, 710P, **708–712**, 712P
- Цис-сеть Гольджи (ЦСГ) (промежуточный компартмент), 1181P, **1183**, 1194P
- Цистеин, 158, 195P
- Цистинурия, 1005
- Цитогенетика, 310–311, 311P, 311PP, 313P
- Цитозин, 181P, 302, 462P
 - С→U редактирование, 746
 - дезаминирование, 454, 456, 457P, 462P
 - спаривание оснований, 303P
 - структура РНК, 509
- Цитозоль, 1068
 - объем, 1069Т
 - регуляция рН, **1013–1014**, 1018–1019
- Цитокин(ы), *см. также* Интерлейкин(ы); конкретные молекулы
 - Т-клетки, 2430
 - антагонисты, кодируемые вирусами, 2352
 - воспалительный ответ, 2351–2352
 - дендритные клетки, 2160P, **2445–2446**
- Цитокинез, 1622, 1623, 1623P, 1649P, 1678P, **1677–1691**, *см. также* Митоз
 - асимметричный, 1688P, **1688**
 - борозда дробления, 295P, 1678
 - время, 1681
 - митотическое веретено деления и плоскость деления животной клетки, **1681–1685**
 - модель астральной релаксации, 1683P, 1683–1685
 - модель астральной стимуляции, 1683, 1683P
 - модель стимуляции центральным веретеном деления, 1683, 1683P, 1685P
 - остаточное тельце, 1679, 1679P
 - разрастание плазматической мембраны, 1236
 - распределение органелл, **1686**
 - роль фрагмопласта у высших растений, 1685P, **1685–1686**, 1686P
 - сократительное кольцо, 1678P, *см. также* Актин/Актиновые филаменты; Миозин(ы)
 - актин и миозин II как генераторы силы, **1678–1679**
 - динамическое поведение, 1519
 - роль RhoA, **1679–1681**
 - сайт сборки, 1685
 - сборка, 1678P, 1678–1679
- Цитолитическое действие, вирусы, 2292
- Цитомегаловирус (CMV), ингибирование транслокации белка МНС класса I, 2355
- Цитоплазма, 115–117, 117P, 1068, *см. также* Цитозоль; конкретные компоненты

- деление, *см.* Цитокинез
- тяжи в растительных клетках, 1200P
- яйцеклетки, 1967
- Цитоплазматические динеины, 1556
- Цитоплазматические мостики, 1972, 1972P, 1978, 1980P
- Цитоплазматические тирозинкиназы, 1517
- Цитоплазматическое наследование, *см.* Менделеевское наследование
- Цитоскелет, 38, 1519P, **1519–1620**, *см. также* Актин/Актиновые филаменты; Филаменты цитоскелета; Промежуточные филаменты; Микротрубочки; *конкретные компоненты*
- Rho белки, **1598–1601**
- влияние на поведение клетки, **1572–1612**
- внутриклеточные якорные белки, 1755
- использование патогенами, **2320–2324**
- клеточная полярность, 1520, 1603
- локализация РНК, **1567–1569**
- моторные белки, *см.* Моторные белки
- прикрепление к клеточным контактам, 1739, 1755, 1755P
- свойства, 1519
- связывание интегринов, **1170**, 1796P
- спектрин (мембранный цитоскелет), 994, 996P
- спиральные филаменты, 215, 218
- стабильность, **1520**
- функция, 1519
- Цитоскелетные филаменты, *см.* Актин/Актиновые филаменты; Филаменты цитоскелета
- Цитотоксические Т-клетки (Т_С), 2354, 2395–2396, **2415–2417**, 2428–2430, *см. также* CD8 Т-клетки
- активация, Т-хелперы (Т_Н), 2418–2420
- влияние интерферона- γ , 2445
- зараженные вирусом клетки, 2428P
- механизм убийства клеток, **2415–2417**, 2417P
- презентация антигена, **2428–2430**, 2431P
- *ср.* Т-хелперы, 2433
- роль корцептора CD8, 2427–2428, 2428P, 2436
- селекция в тимусе, **2434–2436**, 2437P
- эксперименты по пересадке, 2428P
- Цитохалазин, 1521T
- Цитохром *b* – *c*₁ комплекс, 1279, 1281P
- Q-цикл, 1283–1285
- перекачка протонов, 1283
- структура, 1285P
- Цитохром *b*₅₆₂, структура, 206P
- Цитохром *b*₆ – *f* комплекс, фотосистема II, 1306, 1308P
- Цитохром *c*, 1281P
- апоптоз, 1717, 1722, 1722, 1723P
- структура, 217P
- частота мутаций, 406
- Цитохром P450 оксидаза, активация карциногенов, 1877
- Цитохром(ы), **1274**, **1277**, 1279–1281, 1281P, 1308P, *см. также конкретные цитохромы*
- Цитохромоксидазный комплекс, 1279, 1281P
- восстановление кислорода, 1281P, **1279–1282**
- железо-медный кластер, 1282
- млекопитающих, 1282
- отравление, 1282
- природа, 1282
- структура, 1281P, 1282, 1282P
- Цитрат, 154, 154P, 187P
- Цитратсинтаза, 187P
- Чагаса болезнь (американский трипанозомоз), 2313
- Частота (скорость) мутаций, 376, **404–405**
- *Caenorhabditis elegans*, 405
- *Escherichia coli*, 404–405
- влияние естественного отбора, 405, 406
- дефекты репарации ДНК, 454
- занижение, 404–405
- зародышевая линия, 405
- измерение, 405
- митохондриальная ДНК, 1322
- млекопитающие, 405
- ограничение количества генов первой необходимости, 406
- увеличение, 406, *см. также* Рак, Генетическая нестабильность
- фибринопептиды, 405
- эволюционное значение, 379–381, 405
- Человек (*Homo sapiens*)
- в древе жизни, 24P
- геном, *см.* Геном человека
- как модельный организм, **58**

- Человеческий геном, *см.* Геном человека
- Червь, *см.* *Caenorhabditis elegans*
- Черные мембраны, 959, 959P
- Четвертичная структура, 205
- Чешуевидный эпителий, 2194
- Чешуйки, 2171, 2171P
- Число клеток, 1692
- Число оборотов, ферментативный катализ, 239–241
- Числовая апертура, линзы микроскопа, 895, 896P
- «Читатель» кода, белок, *см.* Код-считывающий белок («читатель» кода)
- Членистоногие, *см. также отдельные виды*
- переносимые инфекции, 2300–2301
- полисахариды внеклеточного матрикса, 1810
- Чувствительные клетки, как преобразователи, 2187, *см. также конкретные типы*
- Чума, бубонная, 2301, 2301P
- Шайна – Дальгарно последовательность, 584, 753, 754P
- Шапероны, *см. также конкретные молекулы*
- бактериальные, GroEL, 600P
- импорт белков в митохондрии, 1100P, 1099–1101
- роль в фолдинге белков, 197–198, **597–600**
- эукариотические, 597–600, 600P, 1099, 1100P, 1101
- «Шарик на нитке», модель инактивации потенциал-зависимых кальциевых ионных каналов, 1042P
- Шарко-Мари-Тута болезнь, 1609
- Шарнирная область, молекула антитела, 2382, 2384P
- Шванновские клетки, синтез миелина, 1042
- Шейки матки рак, 1857P, **1857–1859**
- Шероховатый эндоплазматический ретикулум, *см.* Эндоплазматический ретикулум (ЭР), шероховатый
- Шимпанзе, эволюционные отношения, 378, 378, 379P
- Шиповатые клетки, 2171, 2171P
- Шистосомы, атака эозинофилов, 2350, 2350P
- Шму, 1603, 1603P
- Шпильки, структура РНК, 519, 620P
- Шугошины, 1954
- Шум, электронная микроскопия, 939–941
- Щелевые контакты, **1778–1787**
- белки-каналы, 1027
- динамика/оборот, 1781P, 1781–1783
- межклеточная коммуникация, 1296P, **1356**
- метаболическое сопряжение, **1778–1779**
- ооцит и фолликулярная клетка, 1972
- определение размера, 1779, 1779P
- регуляция проницаемости, **1783–1784**, 1784P
- связь между структурой и функцией, 1779–1781
- *ср.* плазмодесмы, 1785
- столбчатый эпителий, 1742, 1742P
- структура, 1779, 1779P, 1781P, **1779–1783**, *см. также* Коннексины
- функции, **1783**
- электрическое сопряжение, **1778–1779**
- Щеточная каемка, 1237, 2199, 2200P
- ЭДТА, методы выделения клеток, 776
- ЭС-клетки, *см.* Эмбриональные стволовые (ЭС) клетки
- Эбола вирус, вход в клетку, мультивезикулярные тельца, 1223
- Эволюционное время, единицы, 406
- Эволюционный консерватизм, 26, 26P
- гистоны, 327
- гомеодоменные белки, 207P, 646–648
- мейоз, 1957, 1965
- последовательность генома, 56–58, 318, 319P, 376, 382, 448
- развитие многоклеточных, 1996P, 1998
- элементы цитоскелета, 1521
- Эволюционный след, сайты связывания белковых семейств, 234P, 234–235
- Эволюция, *см. также* Происхождение жизни, *см. также* Эволюция генома
- анализ частоты мутаций, 405, *см. также* Частота (скорость) мутаций
- белков, *см.* Эволюция белков
- белков-переносчиков, 1010
- водорослей, 1338, 1340P
- врожденной иммунной системы, 2338
- гемоглобина (Hb), 391P, **391–393**
- генов, **24–26**
- гены коллагена, 1817–1818
- дупликация/дивергенция генов, *см.* Дупликация генов

- геномов, *см.* Эволюция генома
- гомологичная рекомбинация и, 500
- древо жизни, 24Р, 23–26, 33
- консерватизм, *см.* Эволюционный консерватизм
- метаболических путей, 1334–1336
- аэробный метаболизм, 18, 39, 1337–1338
- фиксация углерода, **1336–1340**
- миозина и кинезинов, 1558–1559
- многоклеточность и межклеточная коммуникация, **1518**
- молекулярная, *см.* Молекулярная эволюция
- органелл, **1069–1074**, 1076Р, *см. также конкретные органеллы*
- основные события, 1338Р
- патогенов, **2329–2331**
- половое размножение и, 1944Р, **1944–1946**
- рак как микроэволюционный процесс, **1849–1876**
- растений, 52, 1290–1292
- расхождение растений и животных, 1518
- синтез АТФ, **1334–1340**, 1341
- электрон-транспортных цепей, **1334–1341**
- Эволюция белков, **205–214**
 - гомология последовательностей, 207, 207Р, 209, 234–235
 - единица времени эволюции, 406
 - изменение аминокислот, 206, 405, 406
 - модули, 210–212, 393, *см. также* Иммуноглобулины, суперсемейство
 - перетасовка доменов, 210Р, 210–212, 393, 393Р
 - семейства белков, 206–209, 234–235, *см. также* Генные семейства
 - слияние доменов, 861Р
 - ускорение интронами и сплайсингом, 393, 534
 - частота мутаций, 405
- Эволюция генома, **375–398**
 - CG (CpG) островки, 668, 725
 - анализ последовательности, 318, 376, *см. также* Секвенирование генома
 - идентификация консервативных последовательностей, 385Р, 385–387
 - консервативная синтения, 318, 319Р, 382
 - консерватизм, 56–58, 376
 - млекопитающие, консерватизм у, 56–58
 - — однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), 396
 - блоки синтении, 382
 - данио, 390
 - добавления, 382, 394
 - изменение размера, 384
 - изменчивость людей, 396Р, 394–398
 - интрон-экзонная структура гена, 534
 - механизмы, **376**, *см. также* Частота (скорость) мутаций
 - — мутация, *см.* Мутация/и
 - — рекомбинация экзонов, 393
 - — удвоение генов, *см.* Удвоение генов
 - — удвоение генома, 55–56, 210–212, 390
 - нейтральные мутации, 393–394
 - объединение белковых модулей, 210
 - органелл, **1318–1319**, 1319Р, 1321Р
 - потери, 382, 394
 - расхождение последовательностей, **378**, *см. также* Сравнительная геномика
 - — гипотеза молекулярных часов, 379–381
 - — прослеживание предковой последовательности, 378, 379Р
 - — филогенетические деревья, 378, 378Р
 - — человека и мыши, 381Р
 - *ср.* человек и мышь, 381Р, 381–382
 - *ср.* человек и рыба фугу, 384Р
 - *ср.* человек и шимпанзе, 378, 378, 379Р
 - *ср.* число и сложность генов, 376
 - транспозоны, 381, 382Р, 494, 494Р
 - удвоение гена, 387–388
 - ускоренные изменения, 387, 388Р
 - хромосомы, 318, 319Р
- «Эгоистичная ДНК», определение, 485
- Эзрин, 1548
- Эймса тест (на мутагенность), 1877, 1877Р
- Экворин, внутриклеточная концентрация ионов, 918–920, 920Р
- Экзон(ы), 531, 533
 - длина, 541, 542Р
 - пропуск, 541, 545, 545Р
 - рекомбинация в эволюции, 390
 - структура гена (эукариотического), 317
- Экзонуклеотическая коррекция, 411–413, 413Р
- Эзоны С-областей, гены антител, 2398, 2399РР
- Экзосома, 550, 747

- Экзоцитоз, 1152Р, **1226–1241**
- вневклеточный матрикс, 1228
 - конститутивный, **1228**, 1229Р
 - нейромедиаторы, *см.* Синаптические пузырьки
 - протеолитическая модификация груза, 1233
 - путь по умолчанию, **1228**, 1229Р
 - регулируемый, *см.* Регулируемый секреторный путь (экзоцитоз)
 - секторные белки, 1228
 - секторные везикулы, *см.* Секреторные везикулы
- Экологические ниши, устойчивость к антибиотикам, 2335–2338
- Экспериментальная эмбриология, 2002Р, **2002–2004**, 2004Р
- Эксплантат, 779
- Экспортин, транспорт мРНК ВИЧ, 747, 749Р
- Экспрессируемые последовательности (ДНК), *см.* Экзон(ы)
- Экспрессия генов, 8, 305Р, 307Р, *см. также* Транскрипция; Трансляция
- анализ, 637РР, **850–886**, *см. также* Генетика
 - ДНК-чипы, **48–50**, 635, 637Р, 828, 882Р, **882–884**, 884Р
 - двумерный ПААГ, 635, 637Р
 - кластерный анализ, 884, 884Р
 - подходы, 850
 - репортерные гены, 878Р, **878–880**
 - доля экспрессируемого генома, 635
 - конденсация хроматина, 438–440, *см. также* Хроматин; Конденсация хромосом; Сайленсинг генов; Гетерохроматин
 - роль гетерохроматина, 337
 - контроль/регуляция, *см.* Регуляция экспрессии генов
 - метилирование ДНК и, 721–722, 722Р
 - мозаичный эффект положения, 338, 338Р
 - наследуемость, 699, 705, 705Р, 719, *см. также* Метилирование ДНК; Эпигенетические явления; Сайленсинг генов
 - позиционные эффекты, 337, 338Р
 - прокариотическая, 530Р
 - различия между типами клеток, 635
 - рак и, **1894–1897**
 - сигналы ДНК для транскрипции, **516–522**, *см. также* Контрольная область гена
 - транскрипционные единицы, 512Р, 516
 - у человека, 635
 - эукариотическая, 530Р, 648, 712, 713Р
 - эффективность, 508, 509Р
- Экспрессия отдельных клеток, анализ, 884–886, 886Р
- Экстракорпоральное оплодотворение (IVF) и связанные процедуры, 1982, 1989Р, **1988–1991**
- Эксцизионаза, фаг лямбда, 498
- Эксцизионная репарация нуклеотидов (репарация вырезанием нуклеотидов), 453Т, 457, 459Р
- Эксцизионная репарация оснований (репарация вырезанием оснований), **456–457**, 459Р
- Эктодерма, 1998, 2086
- Эластаза, 207Р
- Эластин, 1808, **1822–1825**, 1825Р
- синтез, 1824
 - структура, 220Р, 220–221, 1824–1825, 1825Р
- Эластические волокна, 220Р, 1824Р, **1822–1825**
- Электрическая активность, поддержание и удаление синапса, **2131–2137**
- Электрический потенциал, нейроны, 1038
- Электрогенные насосы, 1019–1020, 1033
- Электрон
- атомные взаимодействия, 69–73, *см. также* Химические связи
 - орбитали, 69
 - электронная оболочка, 69, 73Р, 75
- Электрон-движущая сила, 1251, 1254Р
- Электрон-транспортные цепи, **1272–1290**, *см. также* АТР (аденозинтрифосфат, АТФ); Электронный транспорт
- бактериальный, 1289Р, 1289–1290, 1337Р
 - эволюционное значение, **1335–1336**
 - железо-серные центры, 158
 - митохондрии, *см.* Митохондриальная электрон-транспортная цепь
 - синтез АТР, 157, 157Р, **1257–1260**, 1260Р, *см. также* АТР-синтаза; Электрохимический протонный градиент; Протонные насосы

- движение протонов, 1273, 1273, 1274P
- протонный градиент, 1263P, **1263–1266**
- разобщение, 1285
- фотосинтез, *см.* Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь
- хлоропласты, *см.* Фотосинтетическая электрон-транспортная цепь
- цианобактерии, 1336–1340
- эволюция, **1334–1341**
- анаэробные бактерии, 1335–1336
- брожение, 1334–1335
- фотосинтетические бактерии, 1336
- цианобактерии, 1336–1340
- энергетика, 1262–1263
- Электронная кристаллография, 941–942
- Электронная микроскопия, **930–944**
- SEM, *см.* Сканирующая (растровая) электронная микроскопия (SEM)
- анализ поверхностей, 936P, **935–938**, 938P
- визуализация, **939–942**
- глубина поля, 933, 936
- замораживание-скальвание, 939P
- иммунная микроскопия коллоидного золота, **933–935**, 935P
- история, 930T
- криоэлектронная микроскопия, 939
- локализация молекул, **933–935**
- магнитная линза, 930
- микроскоп, 930
- одночастичная реконструкция, 941, 942P, 944P
- приготовление препаратов, 931P, **931–933**
- радиоавтография, 928P
- разрешение, **604–605**, 930P, 936
- рассеяние электронов, 931
- сетки, 931, 931P
- сканирующая (растровая) электронная микроскопия (SEM), **935–936**, 936P, 938P
- томография, 941P, 942, 942P, 944P
- трансмиссионная электронная микроскопия, *см.* Трансмиссионная электронная микроскопия (ТЕМ)
- трехмерная реконструкция, 933, 935P, **941–942**
- электронная (клеточная) томография, 941P, 942, 942P
- увеличение контрастности, 933, 939
- коллоидное золото, 933, 935P
- красители на основе тяжелых металлов, 933
- металлическое напыление, **936–938**, 939P
- негативное окрашивание, **939**, 941P
- хромосомные пuffs, 365
- Электронная плотность, карты, рентгеновская дифракция, 814
- Электронные красители, 933, 935P
- Электронный транспорт, 110–112, 157P, 1248, 1251P, *см. также* Электрон-транспортные цепи; Окислительное фосфорилирование
- носители NADH/NADPH, 129P, 129–131, 1258P, 1258–1260, *см. также* Активированные носители (переносчики) в метаболизме
- окислительно-восстановительные потенциалы, 1274, 1277, 1283, 1308P, 1310
- окислительное фосфорилирование, 157, 1260, 1260P
- протоны, 1272–1273, 1273P
- *ср.* митохондрии и хлоропласты, 1251, 1254P
- фотохимические реакционные центры, 1302, 1305P, 1308P
- энергетика, 1262–1263, 1274, 1276P, *см. также* АТФ (аденозинтрифосфат, АТФ)
- Электропорация, 868–869, 921, 921P
- Электростатические взаимодействия, 83
- Электрофорез, 798
- агарозный гель, 823
- анализ белков, 800, 804P, **804–805**, 805PP
- гель-электрофорез в градиенте пульсирующего поля, 823
- денатурация белков, 798
- метод рекомбинантных ДНК, **823**
- — блоттинг, *см.* Блоттинг
- — гель-электрофорез в градиенте пульсирующего поля, 823, 825P
- — секвенирование ДНК, 820, 823, 825P, **848**
- окрашивание геля, 798, 800P, 823, 825P
- очистка белков, 798, 800PP, 804–805, 805PP
- полиакриламидный гель, *см.* Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ)

- фракционирование клеток, 798, 800P, 804–805
- Электрофорез в агарозном геле, 823
- Электрофорез в полиакриламидном геле (ПААГ), 798
 - ДСН-ПААГ, 798, 800P, 982
 - гели секвенирования ДНК, 823, 825P
 - двумерный ПААГ, 637P, **804–805**, 805
 - окрашивание, 798, 800P
 - сдвиг электрофоретической подвижности, 655–657, 658P
- Электрохимический градиент, 1009P
- Электрохимический протонный градиент, 1007, 1248, 1263P, **1272–1290**, **1310–1311**
 - бактериальный жгутик, 1263–1264, 1266P
 - генерация, 157, 157P, 1262–1263, 1263P, *см. также* Протонные насосы
 - градиент pH, 1262–1263, 1263P
 - мембраны и, 986, 1010, 1262–1263, 1263P
 - митохондриальный импорт белков, 1100P, 1100–1101
 - нециклическое фосфорилирование, 1305–1306, 1308P
 - протондвижущая сила, 1263, 1289P
 - синтез АТФ, 1019, **1257–1260**, 1260P, **1264–1267**, *см. также* АТФ-синтаза
 - сопряжение с активным транспортом, 1264, 1266P
 - хемиосмос, **1248–1251**, 1251P
 - через бактериальную мембрану, 1289, 1289P
- Элементы (химические), 68, 69, 71P, 73P
- Элерса-Данлоса синдром, 1820
- Элонгация, факторы, 271–273
 - EF-G, *см.* EF-G фактор элонгации
 - EF-Tu, *см.* EF-Tu фактор элонгации
 - транскрипция, 527–530
 - трансляция, 576P, 578P, **578–580**
- Эмбриогенез, *см.* Эмбрион/Эмбриогенез
- Эмбрион/Эмбриогенез, *см. также* Развитие; *отдельные виды; конкретные стадии*
 - dissociation experiments, 1749P, 1749–1751, 1751P
 - G₁-фаза клеточного цикла, 1689
 - анализ клеточного цикла, 1626P, **1626–1627**, 1627P
 - анализ критичных для рака генов, **1900–1901**
 - гастрюляция, 2084–2093
 - кадгеринины, 1745, 1745P
 - описательная эмбриология, 2002
 - передне-задняя ось, *см.* Передне-задняя ось, развитие
 - ползание клеток, 1590
 - полярность, 2084
 - растения, **2142**, 2143, 2144P, **2144**
 - стволовые клетки, *см.* Эмбриональные стволовые (ЭС) клетки
 - экспериментальная эмбриология, 2002, 2002P
 - Эмбриональные клетки зародышевой линии, 1961
 - Эмбриональные стволовые (ЭС) клетки, 780–783, 1961
 - в восстановлении тканей, 2265–2267
 - выделение, 782P, 780–783
 - контроль дифференцировки различными факторами, 2265P
 - мыши, 871P, 2263
 - «персонализированные», 1991, 1991P, 2265–2267
 - получение дифференцированных клеток *in vitro*, 2265
 - проблема иммунного отторжения, 2265–2267
 - разработка лекарств, 2267
 - «терапевтическое клонирование», 783
 - Эндогликозидаза H (Endo H), модификация олигосахаридов, 1189P
 - Эндодерма, 1998, 2086
 - Эндокринная сигнализация, 1352P, 1352–1354, 1354P
 - Эндокринные клетки, 1352
 - в дыхательном эпителии, 2195
 - кишечник (энтероэндокринные клетки), 2199, 2199P
 - Эндоплазматический ретикулум (ЭР), **1111–1143**
 - белки-обменники фосфолипидов, **1143**
 - возвратный путь, **1179–1180**, 1180P, 1180–1181
 - гладкий ЭР, **1112–1114**, 1114, 1115P, *см. также* Саркоплазматический ретикулум
 - гликозилирование белков, 1132P, **1131–1133**, 1147P
 - деградация белков, *см.* Протеасомы

- депо кальция, 1114–1115
- контроль качества, 1177–1178
- липидный метаболизм, 965
- мембрана, относительный объем, 1069Т
- мембранные белки, 749, 971, 979
- микросомы, 789, **1115**
- микротрубочковые моторные белки, организация мембран, 1565
- модификация олигосахаридов, 1189Р
- объем, 1069Т
- процессинг/презентация антигена, 2431Р
- развитие, 1079, 1082
- расположение в клетке, 1069
- распределение во время цитокинеза, 1686
- реакция несвернутых белков, **1136–1139**
- резидентные белки, 1125Р, **1131**, 1132Р, 1147Р, 1177, 1180Р, 1180–1181
- — селективное удержание, **1181**
- сборка белков, **1131**
- — присоединение GPI-якоря, 1139Р, **1139–1140**
- — сборка вируса и, 2318, 2320Р
- сборка вируса и, 2318, 2320Р
- сборка липидного бислоя, 1141Р, **1140–1143**
- сборка рецепторов Т-клеток, 1178
- сигнал удержания, 1131
- синтез антител, 1178Р
- синтез гликолипидов, **1141–1143**
- синтез гликопротеинов, 1132Р, **1131–1133**, 1147Р
- синтез гликофинголипидов, 1141–1143
- синтез сфингомиелина, 1141–1143
- синтез фосфолипидов, 1140, 1140Р
- синтез холестерина, 1140–1143
- синтез церамида, 1141–1143
- структура, 1068, 1111, 1112Р
- транспорт фосфолипидов, **1143**
- фолдинг белков, **1131**, *см. также* Фолдинг (сворачивание) белков
- — реакция несвернутых белков, 1136–1139
- — судьба неправильно свернутых белков, 1137Р, **1135–1139**
- формирование СОРП-окаймленных пупырьков, 1177Р, **1177**
- шероховатый ЭР, 1114Р, 1115, 1115Р
- эволюция, 1076Р
- Эндоплазматический ретикулум (ЭР), транспорт белков, **1111–1143**
- Sec61, белковый комплекс транслокации, 1121Р, **1121–1123**, 1123Р
- белки МНС класса I, ингибирование вирусами, 2355
- в аппарат Гольджи, **1176–1179**, 1208
- интеграция многопроходных трансмембранных белков, 1129Р, **1128–1131**
- интеграция однопроходных трансмембранных белков, **1112–1114**, 1126Р
- контроль качества, **1177–1178**
- котрансляционная транслокация, механизм, 1125Р
- посттрансляционная транслокация, 1125Р, **1131**
- ретро-транслокация, 602, **1135–1136**, 1136Р
- рецептор SRP, 1118
- сигнал начала (старта) переноса, 1125
- сигнал-узнающая частица (SRP), 1120Р, **1117–1121**
- — механизм работы, 1118, 1121
- сигнальные последовательности, 1115–1117, 1126–1128
- стоп-сигнал переноса, 1126Р, **1126**
- судьба неправильно свернутых белков, **1135–1137**, 1137Р
- Эндосимбиотическая гипотеза, эволюционное происхождение органелл, 1318–1319
- Эндосома/ы, *см. также* Эндоцитоз
- мембрана, относительный объем, 1069Т
- объем, 1069Т
- поздние, **1200**, 1204Р, 1219Р, 1225, 1226Р
- процессинг/презентация антигена, 2431Р
- ранние, 1200, 1204Р, **1214**, 1219Р
- — апикальные и базолатеральные, 1226Р
- — изъятие веществ, **1216–1219**
- — эпителиальные клетки, 1225, 1226Р
- рециркуляция, 1217Р, 1219, 1219Р, 1223Р, **1223–1225**, 1225Р
- сортировка белков, 1239Р
- транспорт в лизосомы, 1214–1216
- функция, 1068
- Эндотелиальные клетки, 2214Р, **2211–2219**
- воспалительный ответ, 2352
- структура, 2211
- эмбриональное происхождение, 2212
- Эндотелин-3, 2102

- Эндохондральная кость, формирование, 2249
- Эндоцитоз, 1151, **1208–1226**, *см. также* Эндоцитозный путь
- жидкой фазы, 1211
 - липопротеины низкой плотности (LDL), 1214P, 1214–1216, 1217P
 - поздние эндосомы, **1200**
 - ранние эндосомы, 1200, **1216**
 - рецептор-опосредованный, *см.* Рецептор-опосредованный эндоцитоз
 - сигнал, 1217
- Эндоцитоз-экзоцитоз, цикл, 1211
- Эндоцитозный путь, 1151, 1152P, 1154P, 1220P
- Энергия
- АТФ как носитель, 95, 96P, *см. также* Активированные носители в метаболизме; АТФ (аденозинтрифосфат, АТФ)
 - взаимопревращение, 107P, 1248
 - использование клеткой, *см. также* Хлоропласт(ы); Митохондрии; конкретное использование
 - катаболизм, 108, **139–162**
 - катализ, **101–137**
 - преобразование энергии, **1248–1254**
 - реакции окисления, 108
 - кинетическая энергия, 107P
 - потенциальная энергия, 107P
 - световая энергия, 107P, *см. также* Фотосинтез
 - свободная энергия, *см.* Свободная энергия
 - тепловая энергия, 104–105, 107P, *см. также* Термодинамика
 - формы, 107P
 - химические связи, 73–75, 75P, 107P
 - электрическая энергия, 107P
- Энергия активации, 112, 113P
- снижение ферментами, 113P, 241, 241P
 - лизоцим, 249–250
- Энкефалины, протеолитическая модификация, 1233
- Энолаза, 186P
- Энтероэндокринные клетки, 2199, 2199P
- Энтропия (*S*), 102–104, 104P, 184P
- Энхансеры (усилители), 674P, 2001
- Энхансосома, 688, 736P
- Энцефалит, вирусный, 2301
- Эозин, окрашивание, 901P
- Эозинофилы
- атака шистосом, 2350, 2350P
 - повышающая регуляция при паразитической инфекции, 2221
 - происхождение и формирование, 2222P
 - структура, 2222P
 - цитокинез, 2388
- Эпигенетические явления, 336, 728P, 726–730, *см. также* Геномный импринтинг
- бактерии, 728
 - импринтинг, *см.* Геномный импринтинг
 - метилирование ДНК, *см.* Метилирование ДНК
 - механизмы, 728P, 728–730
 - модификация гистонов, *см.* Гистоны, модификация
 - моноаллельная экспрессия, 730
 - наследование, *см.* Наследование
 - петля положительной обратной связи, 726, 728P
 - при раке, 1853
 - сайленсинг генов супрессии опухолей, 1893, 1893P
 - состояние агрегации белка, 728P
 - *ср.* генетическое наследование, 336P
 - сравнение однойцевых близнецов, 730, 730P
 - структура хроматина, 728
 - эукариоты, 728
- Эпигеном, 730
- Эпидемии, 2277
- Эпидермальные клетки, **2171–2172**
- Эпидермальный фактор роста (EGF), 1693, 1895
- рецептор (EGFR), захват эндоцитозом, 1219
- Эпидермис, 2169P, **2168–2185**
- водонепроницаемый барьер, 2169, 2172–2174
 - клетки, 2171–2172
 - межфолликулярный, 2169–2171
 - обновление за счет стволовых клеток, **2168–2185**
 - связанные сигнальные пути, 2182
 - сигнализация, 2182
 - скорость, 2172
 - распределение стволовых клеток, 2175P
 - растения, 2144, 2146P

- связанные структуры, 2169
- слой зернистых клеток, 2171, 2171P
- Эпилепсия, потенциал-зависимые катионные каналы, 1049
- Эпинефрин, *см.* Адреналин
- Эпистаз, 858–860
- Эпителиально-мезенхимальные переходы, **1753**
- Эпителиальные клетки
 - апикальный домен, 1225, 1226P, 1237, 1237P
 - гликолипиды, 968
 - плотные соединения, 1237
 - площадь поверхности, 1545
 - полярность, **1225**, 1226P, 1237P
 - распределение мембранных белков, 993
 - транспорт IgA, 2388P
 - формирование микроворсинок, 1545
 - эндцитоз, 1225, 1226P
- Эпителій, 1739, 1740P, *см. также* Соединительная ткань
 - адгезия бактерий, 2303
 - защита хозяина, 2339–2340, 2340P
 - — проникновение микробов, **2301–2304**
 - — слизь и, 2301, 2339
 - как барьер, 1767
 - межклеточная адгезия и межклеточные соединения, 1742P, 1741–1744, *см. также* Адгезионные соединения; Кадгерины; Клеточная адгезия; Клеточные контакты; Десмосомы
 - — запирающие контакты, 1237, **1767–1778**
 - — механизмы апикально-базальной полярности, 1773P, 1775P, **1773–1776**
 - — механизмы плоскостной полярности клеток, 1776P, **1776–1778**
 - — прикрепляющие соединения, **1741–1767**
 - сворачивание, 1755, 1756P
 - сенсорный, **2187–2192**
 - столбчатый, 1741
 - структура, 1742P, 1767
 - эпителиально-мезенхимальный переход, **1753**
- Эпитопное маркирование, 794, 796, 797P, *см. также* Белковые метки
- Эпитопы (антигенные детерминанты), 2370, 2391P
- Эпифиз, циркадные ритмы, 710
- Эпштейна–Барр вирус (EBV), 1881T, 2297
- Эритробласты, 2232, 2232P
- Эритромицин, 592T
- Эритропоэз, 1975–1977
 - роль колониестимулирующих факторов, 2232–2234, 2236
 - роль эритропоэтина, 1693, 2232–2234
- Эритропоэтин, 1693, 2232–2234
 - клетки, чувствительные к, 2232
 - клетки-мишени и рецепторы, 2234T
 - синтез, 2232, 2234T
- Эритроцит(ы), 2223T, 2232
 - время жизни и обновление, 2232
 - мембрана, 954P, 994
 - — фосфолипиды, 965
 - повреждения, нанесенные комплементом, 2344P
 - развитие, 2224, 2229P, 2232, 2232P, *см. также* Эритропоэз
 - регуляция осмолярности, 1020, 1020P
 - цитоскелет, 994, 1546–1548
- Эстрадиол, 1363P
- Эстроген, рецептор, 1365P
- Этилен, **1519**, 1519P
- Этилен, рецептор, 1519
- Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА), 776
- Этиопласты, 1292
- Этические вопросы, репродуктивное клонирование, 1989–1991
- Зубактерии, *см.* Бактерии
- Эукариотические клетки
 - РНК-полимеразы, *см.* РНК-полимеразы
 - деление, *см.* Деление клеток
 - клеточные линии, 780, 782T
 - клеточный цикл, *см.* Клеточный цикл
 - компартиментализация, 254, *см. также* Органеллы; *конкретные компартменты*, *см. также* Ядро
 - — внутриклеточные мембраны, 254
 - — локализация ДНК, 307–308
 - мРНК, *см.* Матричная РНК, эукариоты
 - рРНК, *см.* Рибосомная РНК, эукариоты
 - репликация ДНК, *см.* Репликация ДНК
 - синтез белков, *см.* Трансляция
 - скорость метаболизма, 254
 - структура генов, *см.* Структура эукариотических генов

- типы клеток, 634, *см. также* Дифференцировка клеток
- транскрипция, *см.* Транскрипция
- упаковка ДНК, 310–311, *см. также* Хроматин; Хромосома/ы
- фосфорилирование белков, 266–267
- химический состав, млекопитающие, 98Т
- экспрессия генов, 530Р, 635, *см. также* Экспрессия генов; Транскрипция
 - координация, 712, 713Р
 - регуляторные белки, *см.* Белки-регуляторы генов
 - транскрипционная регуляция, *см.* Транскрипционный контроль экспрессии генов
- Эукариоты, 21, 24Р
 - геномы
 - гибридные, **42**
 - метилирование ДНК, 426
 - размер, 27Т, **42–44**, 44Р
 - регуляторная ДНК, 44–45
 - клетки, *см.* Эукариотические клетки
 - некодирующая ДНК, **44**, 313, *см. также* Некодирующая ДНК
 - общие черты, 39Р, **38–45**
 - трансмембранные белки, 979
 - хищники, 38–39
 - эволюционное происхождение, **38–39**
 - эпигенетика, 728
- Эухроматин, 337, 1645, *см. также* Гетерохроматин
- Эфесин, 1516
- Эфрин В2, ветвление капилляров, 2214–2216
- Эфрин А2, ретино-текстальное наведение аксона, 2131
- Эфрин А5, ретино-текстальное наведение аксона, 2129
- Эфрин(ы), 1516, 1516Т, *см. также конкретные типы*
 - рецепторы, *см.* Ерн-рецепторы
 - сигнализация, миграция эпителиальных клеток кишечника, 2203–2205, 2205Р
- Эфрины В, семейство, эпителий кишечника, 2203–2205
- Эфрины А, 2129–2131
- Эффекторные В-клетки, 2367, 2372Р, **2372**, 2382Р
- Эффекторные Т-клетки, 2367, 2368Р, 2372Р, **2372**, 2382Р
- ЯМР-спектроскопия, 209, 816Р, **816–817**, 817, 817Т
- Ядерная мембрана, 1082, 1083Р, 1085Р
- Ядерная оболочка, 38, 307–308, 308Р, 308, 308Р, 1082, *см. также* Ядерная пластинка
 - митотические клетки, 1094Р, 1646, **1656–1658**, 1658, 1674
 - структура, 308Р, 1083Р, 1085Р
- Ядерная пластинка, 307, 308Р, 1082, 1083Р, 1085Р
 - митоз, 1092–1094, 1094Р, 1094, 1094Р
 - структура, 1091
 - электронная микрофотография, 1092Р
- Ядерно-цитоплазматический транспорт
 - Ran GTPаза, **1088–1089**, 1089Р, 1089, 1091Р
 - импорт, **1083–1091**, 1091
 - механизмы, 1088Р, 1088–1089, 1089Р, 1091Р
 - регуляция, 1092Р
 - рецепторы, **1086–1088**, 1088Р, 1088, 1091Р
 - механизмы экспорта, **1088–1089**, 1089Р, 1089, 1089Р
 - направленность, 1089, 1089Р
 - нуклеопорины, 1083
 - регуляция, **1089–1091**, 1091, 1092Р
 - рецепторы, 1088
 - сигналы ядерной локализации (NLS), 1085Р, 1083–1086
 - шатлинг-белки, 1089–1104
 - экспорт мРНК, 505Р, 551Р, **550–553**, 553, 589
 - ВИЧ, 747–749, 749Р, 749
 - готовая к экспорту мРНК, 505Р, 548, 550–551, 551Р, 551, 551Р
 - механизмы локализации, 751Р, **749–753**, 753
 - регуляция, 1091
 - регуляция экспрессии генов, **747–749**, 749
 - ядерные поровые комплексы, *см.* Ядерные поровые комплексы (NLS)
 - ядерные поры, *см.* Ядерные поры
- Ядерные ламинины, 1521, 1521Т

- Ядерные поровые комплексы (NPC), 550, **1083**
- Ran GTPаза, 1088–1089
 - визуализация, 1085–1086, 1086P, 1086
 - механизм работы, 1085–1086
 - селективность по размеру, 1083, 1085P
 - структура, 550, 551P, 1083, 1085P
 - транспорт мРНК, 505P, 550, 551P, 751
- Ядерные поры, 307, 308P, 938P, *см. также* Ядерные поровые комплексы (NPC)
- Ядерные рецепторы гормонов
- белки с цинковыми пальцами, 648–649, 651P
 - белки-регуляторы генов, 2142T
 - удвоение и дивергенция гена, 388, 390P
- Ядерные рецепторы транспорта, 1088
- Ядерные рецепторы, суперсемейство, **1363–1364**, 1364, 1365P, 1367P
- Ядерные рецепторы-сироты, суперсемейство, 1363
- Ядерные шатлинг-белки, 1089–1091
- Ядерный импорт, рецепторы, **1086–1088**, 1088P, 1088, 1088P
- Ядерный магнитный резонанс (ЯМР), *см.* ЯМР-спектроскопия
- Ядерный матрикс (скелет), 370
- Ядерный скелет, *см.* Ядерный матрикс
- Ядерный экспорт
- рецепторы, 1088
 - сигналы, 1088
- Ядра атомов, ЯМР, 816
- Ядро, *см. также термины, начинающиеся с «ядерн-»*
- белки, 550–551
 - компартменты, 368P, 370P, 368–371
 - локализация ДНК, 307–308, *см. также* Хромосомы; ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота)
 - мембрана, относительный объем, 1069T
 - объем, 1069T
 - структура, 307–308, 308P, 308, 308P
 - субъядерные структуры, 560P, **557–562**, 562
 - — GEMS, 557–559, 560P
 - — визуализация, 560P
 - — спеклы, 557–559, 560P
 - — тельца Кахаля, 557–559, 560P
 - — функции, 559–562
 - — ядрышко, *см.* Ядрышко
 - транспорт в/из, *см.* Ядерно-цитоплазматический транспорт
- Ядро, яйцеклетка, 1967
- Ядрышко, 556P, 556P, 556–557, 557P, 557, 557P, 559P
- синтез рибосом, *см.* Рибосомы
- Яичники
- вспомогательные клетки, 1972P, 1972P, 1973P, 1972–1975
 - развитие, 1964, 1968
 - рак, дефекты репарации ДНК, 453T
 - щелевые контакты, 1783
- Яйцеклетка (яйцо), **1967–1975**
- *C. elegans*, 2021–2023
 - активация, 1967, **1983**, *см. также* Оплодотворение
 - — кортикальная реакция, 1985, 1986P, **1986**
 - — кортикальные гранулы, 1968
 - — повышение концентрации Ca^{2+} , **1985**
 - — связывание сперматозоида, 1942P, 1983P, **1983–1985**, 1986P
 - партеногенез, 1967
 - размер, 1967, 1967P, 1972P, **1972–1973**
 - специализированная клетка, 1967PP, **1967–1968**, 1973P, 1983P
 - стадии развития, 1970P, **1968–1972**, 1973P
 - — ППК, *см.* Первичные половые клетки (ППК)
 - — время, 1968
 - — ооциты, *см.* Ооциты
 - тотипотентность, 1960
 - удаление ядра, 634, 636P
- Яйцо, *см.* Яйцеклетка (яйцо)
- Якорная аминокислота, связывание пептида с белком МНС, 2424–2425, 2425P
- Якорные белки, цитоскелетные, 1755
- Янус-киназа (Jak), **1517**
- кДНК, 836
- библиотеки, 836, 837P, 839
 - клоны, 836, 837, 837P, 839
 - — ПЦР-клонирование, 841P
 - синтез, 837P, 882
- мРНК, *см.* Матричная РНК (мРНК)
- мРНК-рибосомы, взаимодействие, *см. также* Белки, синтез; Рибосомы
- путь через, 576P

- рибосомный участок связывания, 575Р, 576
- бактериальной мРНК, 586Р
- бактериальной последовательности Шайна–Дальгарно, 584, 586Р, 753
- участок внутренней посадки рибосомы (IRES), 757Р, 757, 2324
- мРНК-тРНК взаимодействия, 273–275, *см. также* Транспортная РНК (тРНК); Трансляция
- плюрипотентная, происхождение лимфоцитов, 2367, *см. также* Кроветворение (гемопоз)
- самообновление, 2231
- спасение облученных людей, 2228
- рРНК, *см.* Рибосомная РНК
- тРНК, *см.* Транспортная РНК (тРНК)
- тРНК-сплайсирующая эндонуклеаза, 566, 568Р

Благодарности

При написании этой книги нам оказали большую помощь советы многих биологов и биохимиков. Мы хотели бы поблагодарить поименно всех, кто вносил свои предложения при подготовке этого издания, равно как и первого, второго, третьего и четвертого изданий. (В первую очередь упоминаются те, кто помог в работе над этим изданием, те же, кто помогал с первым, вторым, третьим и четвертым изданиями, — за ними.)

Глава 1: W. Ford Doolittle (Dalhousie University, Canada), Jennifer Frazier (Exploratorium®, San Francisco), Douglas Kellogg (University of California, Santa Cruz), Eugene Koonin (National Institutes of Health), Mitchell Sogin (Woods Hole Institute)

Глава 2: Michael Cox (University of Wisconsin, Madison), Christopher Mathews (Oregon State University), Donald Voet (University of Pennsylvania), John Wilson (Baylor College of Medicine)

Глава 3: David Eisenberg (University of California, Los Angeles), Louise Johnson (University of Oxford), Steve Harrison (Harvard University), Greg Petsko (Brandeis University), Robert Stroud (University of California, San Francisco), Janet Thornton (European Bioinformatics Institute, UK)

Глава 4: David Allis (The Rockefeller University), Adrian Bird (Wellcome Trust Centre, UK), Gary Felsenfeld (National Institutes of Health), Susan Gasser (University of Geneva, Switzerland), Eric Green (National Institutes of Health), Douglas Koshland (Carnegie Institution of Washington, Baltimore), Ulrich Laemmli (University of Geneva, Switzerland), Mikhael Lynch (Indiana University), Hiten Madhani (University of California, San Francisco), Elliott Margulies (National Institutes of Health), Geeta Narlikar (University of California, San Francisco), Maynard Olson (University of Washington)

Глава 5: Elizabeth Blackburn (University of California, San Francisco), James Haber (Brandeis University), Nancy Kleckner (Harvard University), Joachim Li (University of California, San Francisco), Thomas Lindahl (Cancer Research, UK), Rodney Rothstein (Columbia University), Aziz Sancar (University of North Carolina, Chapel Hill), Bruce Stillman (Cold Spring Harbor Laboratory), Steven West (Cancer Research, UK), Rick Wood (University of Pittsburgh)

Глава 6: Raul Andino (University of California, San Francisco), David Bartel (Massachusetts Institute of Technology), Richard Ebright (Rutgers University), Daniel Finley (Harvard University), Joseph Gall (Carnegie Institution of Washington), Michael Green (University of Massachusetts Medical School), Carol Gross (University of California, San Francisco), Christine Guthrie (University of California, San Francisco), Art Horwich (Yale University School of Medicine), Roger Kornberg (Stanford University), Reinhard Lührman (Max Planck Institute of Biophysical

Chemistry, Göttingen), Quinn Mitrovich (University of California, San Francisco), Harry Noller (University of California, Santa Cruz), Roy Parker (University of Arizona), Robert Sauer (Massachusetts Institute of Technology), Joan Steitz (Yale University), Jack Szostak (Harvard Medical School, Howard Hughes Medical Institute), David Tollervey (University of Edinburgh, UK), Alexander Varshavsky (California Institute of Technology), Jonathan Weissman (University of California, San Francisco)

Глава 7: Raur Andino (University of California, San Francisco), David Bartel (Massachusetts Institute of Technology), Michael Bulger (University of Rochester Medical Centre), Michael Green (University of Massachusetts Medical School), Carol Gross (University of California, San Francisco), Frank Holstege (University Medical Center, The Netherlands), Roger Kornberg (Stanford University), Hiten Madhani (University of California, San Francisco), Barbara Panning (University of California, San Francisco), Mark Ptashne (Memorial Sloan-Kettering Center), Ueli Schibler (University of Geneva, Switzerland), Azim Surani (University of Cambridge)

Глава 8: Wallace Marshall [major contribution] (University of California, San Francisco)

Глава 9: Wolfgang Baumeister (Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried), Ken Sawin (The Wellcome Trust Centre for Cell Biology, UK), Peter Shaw (John Innes Centre, UK), Werner Kühlbrandt (Max Planck Institute of Biophysics, Frankfurt am Main), Ronald Vale (University of California, San Francisco), Jennifer Lippincott-Schwartz (National Institute of Health)

Глава 10: Ari Helenius (Swiss Federal Institute of Technology Zürich, Switzerland), Werner Kühlbrandt (Max Planck Institute of Biophysics, Frankfurt am Main), Dieter Osterhelt (Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried), Kai Simons (Max Planck Institute of Molecular Cell Biology and Genetics, Dresden)

Глава 11: Wolfhard Almers (Oregon Health and Science University), Robert Edwards (University of California, San Francisco), Bertil Hille (University of Washington), Lily Jan (University of California, San Francisco), Roger Nicoll (University of California, San Francisco), Robert Stroud (University of California, San Francisco), Patrick Williamson (University of Massachusetts, Amherst)

Глава 12: Larry Gerace (The Scripps Research Institute), Ramanujan Hegde (National Institutes of Health), Nikolaus Pfanner (University of Freiburg, Germany), Daniel Schnell (University of Massachusetts, Amherst), Karsten Weis (University of California, Berkeley), Susan Wente (Vanderbilt University Medical Center), Pat Williamson (University of Massachusetts, Amherst)

Глава 13: Scott Emr (University of California, San Diego), Ben Glick (University of Chicago), Ari Helenius (Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Switzerland), Ira Mellman (Yale University), Hugh Pelham (The Medical Research Council, Cambridge), Giampietro Schiavo (London Research Institute), Graham Warren (Yale University), Marino Zerial (Max Planck Institute of Molecular Cell Biology and Genetics, Frankfurt am Main)

Глава 14: Michael Gray (Dalhousie University), Andrew Halestrap (University of Bristol, UK), Werner Kühlbrandt (Max Planck Institute of Biophysics, Frankfurt am Main), Craig Thompson (Abramson Family Cancer Research Institute, University of Pennsylvania), Michael Yaffe (University of California, San Diego)

Глава 15: Nicholas Harberd [substantial contribution] (John Innes Centre, UK), Henry Bourne (University of California, San Francisco), Dennis Bray (University of Cambridge), James Briscoe (National Institute for Medical Research, UK), James Ferrell (Stanford University), Matthew Freeman (Laboratory of Molecular Biology, UK), Alfred Gilman (The University of Texas Southwestern Medical Center), Sankar Ghosh (Yale University School of Medicine), Alan Hall (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center), Carl-Henrik Heldin (Ludwig Institute for Cancer Research, Sweden), Robin Irvine (University of Cambridge), Michael Karin (University of California, San Diego), Elliott Meyerowitz (California Institute of Technology), Roel Nusse (Stanford University), Tony Pawson (Mount Sinai Hospital, Toronto), Julie Pitcher (University College London), Len Stephens (The Babraham Institute, UK)

Глава 16: Julie Theriot [major contribution] (Stanford University), Henry Bourne (University of California, San Francisco), Lary Goldstein (University of California, San Diego), Alan Hall (MRC Laboratory of Molecular Biology and Cell Biology, UK), Joe Howard (Max Planck Institute of Molecular Cell Biology and Genetics, Dresden), Laura Machesky (The University of Birmingham, UK), Timothy Mitchtson (Harvard Medical School), Ronald Vale (University of California, San Francisco)

Глава 17: David Morgan [major contribution] (University of California, San Francisco), Arsnad Desai (University of California, San Diego), Bruce Edgar (Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle), Michael Glotzer (University of Chicago), Rebecca Heald (University of California, Berkeley), Eric Karsenti (European Molecular Biology Laboratory, Germany), Kim Nasmyth (University of Oxford), Jonathan Pines (Gurdon Institute, Cambridge), Charles Sherr (St. Jude Children's Hospital)

Глава 18: Xiaodong Wang [substantial contribution] (The University of Texas Southwestern Medical School), Jerry Adams (The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research, Australia), Douglas Green (St. Jude Children's Hospital), Shigekazu Nagata (Kyoto University, Japan)

Глава 19: Jeffrey Axelrod (Stanford University Medical Center), Walter Birchmeier (Max-Delbrück Center for Molecular Medicine, Germany), Keith Burridge (University of North Carolina, Chapel Hill), John Couchman (Imperial College, UK), Caroline Damsky (University of California, San Francisco), Matthias Falk (Lehigh University), David Garrod (University of Manchester, UK), Daniel Goodenough (Harvard Medical School), Martin Humphries (University of Manchester, UK), Richard Hynes (Massachusetts Institute of Technology), Ken Keegstra (Michigan State University), Morgan Sheng (Massachusetts Institute of Technology), Charles Streuli (University of Manchester, UK), Masatoshi Takeichi (RIKEN Kobe Institute, Japan), Kenneth Yamada (National Institutes of Health)

Глава 20: Laura Attardi [substantial contribution] (Stanford University), Anton Berns (Netherlands Cancer Institute, The Netherlands), Michael Bishop (University of California, San Francisco), Fred Bunz (Johns Hopkins), Johann De-Bono (The Institute of Cancer Research, UK), John Dick (University of Toronto, Canada), Paul Edwards (University of Cambridge), Douglas Hanahan (University of California, San Francisco), Joseph Lipsick (Stanford University School of Medicine), Scott Lowe (Cold Spring Harbor Laboratory), Bruce Ponder (University of Cambridge), Craig Thompson (University of Pennsylvania), Ian Tomlinson (Cancer Research, UK), Robert Weinberg (Massachusetts Institute of Technology)

Глава 21: Patricia Calarco (University of California, San Francisco), John Carroll (University College London), Abby Dernburg (University of California, Berkeley), Scott Hawley (Stowers Institute for Medical Research, Kansas City), Neil Hunter (University of California, Davis), Nancy Kleckner (Harvard University), Anne McLaren (Wellcome/Cancer Research Campaign Institute, Cambridge), Diana Myles (University of California, Davis), Terry Orr-Weaver (Massachusetts Institute of Technology), Renee Reijo (University of California, San Francisco), Gerald Schatten (Pittsburgh Development Center), Azim Surani (The Gurdon Institute, UK), Paul Wassarman (Mount Sinai School of Medicine)

Глава 22: Julie Ahringer (The Gurdon Institute, UK), Konrad Basler (University of Zurich, Switzerland), Richard Harland (University of California, Berkeley), Brigid Hogan (Duke University), Kenneth Irvine (Rutgers University), Daniel St. Johnson (The Gurdon Institute, UK), Elliott Meyerowitz (California Institute of Technology), William McGinnis (University of California, San Diego), Elizabeth Robertson (The Wellcome Trust Centre for Human Genetics, UK), Francois Schweisguth (French National Centre for Scientific Research, France), Jim Smith (The Gurdon Institute, UK), Nicolas Tapon (London Research Institute)

Глава 23: Ralf Adams (London Research Institute), Hans Clevers (Hubrecht Institute, The Netherlands), Jeffrey Gordon (Washington University, St. Louis), Holger Gerhardt (London Research Institute), Simon Hughes (Kings College, UK), Daniel Louvard (Institut Curie, France), Bjorn Olsen (Harvard Medical School), Stuart Orkin (Harvard Medical School), Thomas Reh (University of Washington, Seattle), Austin Smith (University of Edinburgh, UK), Charles Streuli (The University of Manchester, UK), Fiona Watt (Cancer Research Institute, UK)

Глава 24: Julie Theriot [major contribution] (Stanford University), Michael Bishop (University of California, San Francisco), Harald von Boehmer (Harvard Medical School), Lynn Enquist (Princeton University), Stan Falkow (Stanford University), Douglas Fearon (University of Cambridge), Lewis Lanier (University of California, San Francisco), Richard Locksley (University of California, San Francisco), Daniel Portnoy (University of California, Berkeley), Caetano Reis e Sousa (Cancer Research, UK), Ralph Steinman (The Rockefeller University), Gary Ward (University of Vermont)

Глава 25: Harald von Boehmer (Harvard Medical School), Douglas Fearon (University of Cambridge), Lewis Lanier (University of California, San Francisco), Philipp Marrack (National Jewish Medical and Research Center, Denver), Michael

Neuberger (University of Cambridge), Michael Nussenzweig (Rockefeller University), William Paul (National Institutes of Health), Klaus Rajewsky (Harvard Medical School), Caetano Reis e Sousa (Cancer Research, UK), Ralph Steinman (The Rockefeller University).

Словарь терминов: Eleanor Lawrence, Sherry Granum

Рецензенты: David Kashatus (Duke University), Emmanuel Kreidl (University of Vienna, Austria), Nick Rudzik (University of Toronto, Canada), Dea Shahinas (University of Toronto, Canada)

Первое, второе, третье и четвертое издания: David Agard (University of California, San Francisco), Michael Akam (University of Cambridge), Fred Alt (CBR Institute for Biomedical Research, Boston), Linda Amos (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge), Raul Andino (University of California, San Francisco), Clay Armstrong (University of Pennsylvania), Martha Arnaud (University of California, San Francisco), Spyros Artavanis-Tsakonas (Harvard Medical School), Michael Ashburner (University of Cambridge), Jonathan Ashmore (University College, London), Tayna Amabdy (University of California, San Francisco), Peter Baker (deceased), David Baldwin (Stanford University), Michael Banda (University of California, San Francisco), Cornelia Bargmann (University of California, San Francisco), Ben Barres (Stanford University), David Bartel (Massachusetts Institute of Technology), Michael Bennett (Albert Einstein College of Medicine), Darwin Eerg (University of California, San Diego), Merton Bernfield (Harvard Medical School), Michael Berridge (The Babraham Institute, Cambridge), David Birk (UMNDJ – Robert Wood Johnson Medical School), Michael Bishop (University of California, San Francisco), Tim Bliss (National Institute for Medical Research, London), Hans Bode (University of California, Irvine), Piet Borst (Jan Swammerdam Institute, University of Amsterdam), Henry Bourne (University of California, San Francisco), Alan Boyde (University College London), Maftin Brand (University of Cambridge), Carl Branden (deceased), Andre Brandli (Swiss Federal Institute of Technology, Zurich), Mark Bretscher (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge), Marianne Bronner-Fraser (California Institute of Technology), Robert Brooks (King's College London), Michael Brown (University of Oxford), Steve Burden (New York University of Medicine), Max Burger (University of Basel), Stephen Burley (SGX Pharmaceuticals), Keith Burridge (University of North Carolina, Chapel Hill), John Cairns (Radcliffe Infirmary, Oxford), Zacheus Cande (University of California, Berkeley), Lewis Cantley (Harvard Medical School), Charles Cantor (Columbia University), Roderick Capaldi (University of Oregon), Mario Capecchi (University of Utah), Michael Carey (University of California, Los Angeles), Adelaide Carpenter (University of California, San Diego), Tom Cavalier-Smith (King's College London), Pierre Chambon (University of Strasbourg), Enrico Coen (John Innes Institute, Norwich, UK), Philip Cohen (University of Dundee, Scotland), Robert Cohen (University of California, San Francisco), Stephen Cohen (EMBL Heidelberg, Germany), Roger Cooke (University of California, San Francisco), John Cooper (Washington University School of Medicine, St. Louis), Nancy Craig (Johns Hopkins University), James Crow (University of Wisconsin, Madison), Stuart Cull-Candy (University College London), Leslie Dale (University College London), Michael Dexter (The Wellcome Trust, UK), Anthony DeFranco (University of

California, San Francisco), Christopher Dobson (University of Cambridge), Russell Doolittle (University of California, San Diego), Julian Downward (Cancer Research, UK), Keith Dudley (King's College London), Graham Dunn (MRC Cell Biophysics Unit, London), Jim Dunwell (John Innes Institute, Norwich, UK), Paul Edwards (University of Cambridge), Robert Edwards (University of California, San Francisco), David Eisenberg (University of California, Los Angeles), Sarah Elgin (Washington University, St' Louis), Ruth Ellman (Institute of Cancer Research, Sutton, UK), Beverly Emerson (The Salk Institute), Charles Emerson (University of Virginia)' Scott Emr (University of California, San Diego), Sharyn Endow (Duke University), Tariq Enver (Institute of Cancer Research, London)' David Epel (Stanford University), Gerard Evan (University of California, Comprehensive Cancer Center), Ray Evert (University of Wisconsin, Madison), Stanley Falkow (Stanford University), Gary Felsenfeld (National Institutes of Health), Stuart Ferguson (University of Oxford), Christine Field (Harvard Medical School), Gary Firestone (University of California, Berkeley), Gerald Fischbach (Columbia University), Robert Fletterick (University of California, San Francisco), Harvey Florman (Tufts University), Judah Folkman (Harvard Medical School), Larry Fowke (University of Saskatchewan, Canada), Daniel Friend (University of California, San Francisco), Elaine Fuchs (University of Chicago), Joseph Gall (Yale University), Richard Gardner (University of Oxford), Anthony Gardner-Medwin (University College London), Peter Garland (Institute of Cancer Research, London), Walter Gehring (Biozentrum, University of Basel), Benny Geiger (Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel), Larry Glance (The Scripps Research Institute), John Gerhart (University of California, Berkeley), Günther Gerisch (Max Planck Institute of Biochemistry, Martinsried), Frank Gertler (Massachusetts Institute of Technology), Sankar Ghosh (Yale University School of Medicine), Reid Gilmore (University of Massachusetts Amherst), Bernie Gilula (deceased) Charles Gilvarg (Princeton University), Michael Glotzer (University of Vienna, Austria), Larry Goldstein (University of California, San Diego), Bastien Gomperts (University College Hospital Medical School, London), Daniel Goodenough (Harvard Medical School), Jim Goodrich (University of Colorado, Boulder), Peter Gould (Middlesex Hospital Medical School, London), Alan Grafen (University of Oxford), Walter Gratzer (King's College London), Howard Green (Harvard University), Michael Green (University of Massachusetts, Amherst), Leslie Grivell (University of Amsterdam, The Netherlands), Carol Gross (University of California, San Francisco), Frank Grosveld (Erasmus Universiteit. The Netherlands), Michael Grunstein (University of California, Los Angeles), Barry Gumbiner (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center), Brian Gunning (Australian National University, Canberra), Christine Guthrie (University of California, San Francisco), Ernst Hafen (Universität Zurich), David Haig (Harvard University), Alan Hall (MRC Laboratory for Molecular Biology and Cell Biology, London), Jeffrey Hall (Brandeis University), John Hall (University of Southampton, UK), Zach Hall (University of California, San Francisco), David Hanke (University of Cambridge), Nicholas Harberd (John Innes Centre, Norwich, UK), Graham Hardie (University of Dundee, Scotland), Richard Harland (University of California, Berkeley), Adrian Harris (Cancer Research, UK), John Harris (University of Otago, New Zealand), Stephen Harrison (Harvard University), Leland Hartwell (University of Washington, Seattle), Adrian Harwood (MRC Laboratory for Molecular Cell Biology and Cell Biology Unit, London), John Heath (University of Birmingham, UK), Ari Helenius (Yale University), Richard Henderson (MRC Laboratory of Molecular Biology,

Cambridge), Glenn Herrick (University of Utah), Ira Herskowitz (deceased), Bertil Hille [university of Washington, Seattle), Alan Hinnebusch (National Institutes of Health, Bethesda), Nancy Hollingsworth (State University of New York Stony Brook), Leroy Hood (Institute for Systems Biology, Seattle), John Hopfield (Princeton University), Robert Horvitz (Massachusetts Institute of Technology), David Housman (Massachusetts Institute of Technology), Jonathan Howard (University of Washington, Seattle), James Hudspeth (The Rockefeller University), Simon Hughes (King's College London), Martin Humphries (University of Manchester, UK), Tim Hunt (Cancer Research, UK), Laurence Hurst (University of Bath, UK), Jeremy Hyams (University College London), Tony Hyman (Max Planck Institute of Molecular Cell Biology & Genetics, Dresden), Richard Hynes (Massachusetts Institute of Technology), Philip Ingham (University of Sheffield, UK), Norman Iscove (Ontario Cancer Institute, Toronto), David Ish-Horowicz (Cancer Research, UK), Lily Jan (University of California, San Francisco), Charles Janeway (deceased), Tom Jessell (Columbia University), Arthur Johnson (Texas A & M University), Andy Johnston (John Innes Institute, Norwich, UK), E. G. Jordan (Queen Elizabeth College, London), Ron Kaback (University of California, Los Angeles), Ray Keller (University of California, Berkeley), Douglas Kellogg (University of California, Santa Cruz), Regis Kelly (University of California, San Francisco), John Kendrick-Jones (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge), Cynthia Kenyon (University of California, San Francisco), Roger Keynes (University of Cambridge), Judith Kimble (University of Wisconsin, Madison), Robert Kingston (Massachusetts General Hospital), Marc Kirschner (Harvard University), Richard Klausner (National Institutes of Health), Nancy Kleckner (Harvard University), Mike Klymkowsky (University of Colorado, Boulder), Kelly Komachi (University of California, San Francisco), Eugene Koonin (National Institutes of Health), Juan Korenbrot (University of California, San Francisco), Tom Kornberg (University of California, San Francisco), Stuart Kornfeld (Washington University, St. Louis), Daniel Koshland (University of California, Berkeley), Marilyn Kozak (University of Pittsburgh), Mark Krasnow (Stanford University), Werner Kühlbrandt (Max Planck Institute for Biophysics, Frankfurt am Main), John Kuriyan (University of California, Berkeley), Robert L. Lota (MRC Laboratory for Molecular Cell Biology, London), Peter Lachmann (MRC Center, Cambridge), Ulrich Laemmli (University of Geneva, Switzerland), Trevor Lamb (University of Cambridge), Hartmut Land (Cancer Research, UK), David Lane (University of Dundee, Scotland), Jane Langdale (University of Oxford), Jay Lash (University of Pennsylvania), Peter Lawrence (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge), Paul Lazarow (Mount Sinai School of Medicine), Robert J. Lefkowitz (Duke University), Michael Levine (University of California, Berkeley), Warren Levinson (University of California, San Francisco), Alex Levitzki (Hebrew University, Israel), Ottoline Leyser (University of York, UK), Joachim Li (University of California, San Francisco), Tomas Lindahl (Cancer Research, UK), Vishu Lingappa (University of California, San Francisco), Jennifer Lippincott-Schwartz (National Institutes of Health, Bethesda), Dan Littman (New York University School of Medicine), Clive Lloyd (John Innes Institute, Norwich, UK), Richard Losick (Harvard University), Robin Lovell-Badge (National Institute for Medical Research, London), Shirley Lowe (University of California, San Francisco), Laura Machesky (University of Birmingham, UK), James Mailer (University of Colorado Medical School), Tom Maniatis (Harvard University), Colin Manoil (Harvard Medical School), Philippa Marrack (National Jewish Medical and Research Center, Denver), Mark Marsh (Institute of Cancer

Research, London), Gail Martin (University of California, San Francisco), Paul Martin (University College London), Joan Vassague (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center), Brian VcCarthy (University of California, Irvine), Richard McCarty (Cornell University), William McGinnis (University of California, Davis), Anne McLaren (Wellcome/Cancer Research Campaign Institute, Cambridge), Frank McNally (University of California, Davis), Freiderick Meins (Freiderich Miescher Institut, Basel), Stephanie Mel (University of California, San Diego), Ira Mellman (Yale University), Barbara Meyer (University of California, Berkeley), Elliot Meyerowitz (California Institute of Technology), Chris Miller (Brandeis University), Robert Mishell (University of Birmingham, UK), Avriion Mitchison (University College London), N. A. Mitchison (University College London), Tim Mitchison (Harvard Medical School), Peter Mombaerts (The Rockefeller University), Mark Mooseker (Yale University), David Morgan (University of California, San Francisco), Michelle Moritz (University of California, San Francisco), Montrose Moses (Duke University), Keith Mostov (University of California, San Francisco), Anne Mudge (University College London), Hans Müller-Eberhard (Scripps Clinic and Research Institute), Alan Munro (University of Cambridge), J. Murdoch Mitchison (Harvard University), Richard Myers (Stanford University), Diana Myles (University of California, Davis), Andrew Murray (Harvard University), Mark E. Nelson (University of Illinois, Urbana-Champaign), Michael Neuberger (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge), Walter Neupert (University of Munich, Germany), David Nicholls (University of Dundee, Scotland), Suzanne Noble (University of California, San Francisco), Harry Noller (University of California, Santa Cruz), Jodi Nunnari (University of California, Davis), Paul Nurse (Cancer Research, UK), Duncan O'Dell (deceased), Patrick O'Farrell (University of California, San Francisco), Maynard Olson (University of Washington, Seattle), Stuart Orkin (Children's Hospital, Boston), Terri Orr-Weaver (Massachusetts Institute of Technology), Erin O'Shea (Harvard University), William Otto (Cancer Research, UK), John Owen (University of Birmingham, UK), Dale Oxender (University of Michigan), George Palade (deceased), Barbara Panning (University of California, San Francisco), Roy Parker (University of Arizona, Tucson), William W. Parson (University of Washington, Seattle), Terence Partridge (MRC Clinical Sciences Centre, London), William E. Paul (National Institutes of Health), Tony Pawson (Mount Sinai Hospital, Toronto), Hugh Pelham (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge), Robert Perry (Institute of Cancer Research, Philadelphia), Greg Petsko (Brandeis University), Gordon Peters (Cancer Research, UK), David Phillips (The Rockefeller University), Jeremy Pickett-Heaps (The University of Melbourne, Australia), Julie Pitcher (University College London), Jeffrey Pollard (Albert Einstein College of Medicine), Tom Pollard (Yale University), Bruce Ponder (University of Cambridge), Dan Portnoy (University of California, Berkeley), James Priess (University of Washington, Seattle), Darwin Prockop (Tulane University), Dale Purves (Duke University), Efraim Racker (Cornell University), Jordan Raff (Wellcome/CRC Institute, Cambridge), Klaus Rajewsky (University of Cologne, Germany), George Ratcliffe (University of Oxford), Elio Raviola (Harvard Medical School), Martin Rechsteiner (University of Utah, Salt Lake City), David Rees (National Institute for Medical Research, London), Louis Reichardt (University of California, San Francisco), Fred Richards (Yale University), Conly Rieder (Wadsworth Center, Albany), Phillips Robbins (Massachusetts Institute of Technology), Elaine Robson (University of Reading, UK), Robert Roeder (The Rockefeller University), Joel

Rosenbaum (Yale University), Janet Rossant (Mount Sinai Hospital, Toronto), Jesse Roth (National Institutes of Health), Jim Rothman (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center), Erkki Ruoslahti (La Jolla Cancer Research Foundation), Gary Ruvkun (Massachusetts General Hospital), David Sabatini (New York University), Alan Sachs (University of California, Berkeley), Alan Sachs (University of California, Berkeley), Edward Salmon (University of North Carolina, Chapel Hill), Joshua Sanes (Harvard University), Peter Sarnow (Stanford University), Lisa Satterwhite (Duke University Medical School), Howard Schachman (University of California, Berkeley), Gottfried Schatz (Biozentrum, University of Basel), Randy Schekman (University of California, Berkeley), Richard Scheller (Stanford University), Giampietro Schiavo (Cancer Research, UK), Joseph Schlessinger (New York University Medical Center), Michael Schramm (Hebrew University), Robert Schreiber (Scripps Clinic and Research Institute), James Schwartz (Columbia University), Ronald Schwartz (National Institutes of Health), Francois Schweisguth (ENS, Paris), John Scott (University of Manchester, UK), John Sedat (University of California, San Francisco), Peter Selby (Cancer Research, UK), Zvi Sellinger (Hebrew University, Israel), Gregg Semenza (Johns Hopkins University), Philippe Sengel (University of Grenoble, France), peter Shaw (John Innes Institute, Norwich, UK), Michael Sheetz (Columbia University), David Shima (Cancer Research, UK), Samuel Silverstein (Columbia University), Kai Simons (Max planck Institute of Molecular Cell Biology and Genetict Dresden), Melvin I. Simon (California Institute of Technology), Jonathan Slack (Cancer Research, UK), Alison Smith (John Innes Institute, Norfolk, UK), John Maynard Smith (University of Sussex UK), Frank Solomon (Massachusetts Institute of Technology), Michael Solursh (University of Iowa), Bruce Spiegelman (Harvard Medical School), Timothy Springer (Harvard Medical School), Mathias Sprinzl (University of Bayreuth, Germany), Scott Stachel (University of California, Berkeley), Andrew Staehelin (University of Colorado, Boulder), David Standring (University of California, San Francisco), Margaret Stanley (University of Cambridge), Martha Stark (University of California, San Francisco), Wilfred Stein (Hebrew University, Israel), Malcolm Steinberg (princeton University), Paul Sternberg (California Institute of Technology), Chuck Stevens (The Salk Institute), Murray Stewart (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge), Monroe Strickberger (University of Missouri, St. Louis), Robert Stroud (University of California, San Francisco), Michael Stryker (University of California, San Francisco), William Sullivan (University of California, Santa Cruz), Daniel Szollosi (Institut National de la Recherche Agronomique, France), Jack Szostak (Massachusetts General Hospital), Masatoshi Takeichi (Kyoto University), Clifford Tabin (Harvard Medical School), Diethard Tautz (University of Cologne, Germany), Julie Theriot (Stanford University), Roger Thomas (University of Bristol, UK), Vernon Thornton (King's College London), Cheryl Tickle (University of Dundee, Scotland), Jim Till (Ontario Cancer Institute, Toronto), Lewis Tilney (University of Pennsylvania), Nick Tonk (Cold Spring Harbor Laboratory), Alain Townsend (Institute of Molecular Medicine, John Radcliffe Hospital, Oxford), Paul Travers (Anthony Nolan Research Institute, London), Robert Trelstad (UMDNJ, Robert Wood Johnson Medical School), Anthony Trewavas (Edinburgh University, Scotland), Nigel Unwin (MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge), Victor Vacquier (University of California, San Diego), Harry van der Westen (Wageningen, The Netherlands), Tom Vanaman (University of Kentucky), Harold Varmus (Sloan-Kettering Institute), Alexander Varshavsky (California Institute of Technology), Madhu Wahi (University of California, San

Francisco), Virginia Walbot (Stanford University), Frank Walsh (Glaxo-Smithkline-Beecham, UK), Trevor Wang (John Innes Institute, Norwich, UK), Yu-Lie Wang (Worcester Foundation for Biomedical Research), Anne Warner (University College London), Graham Warren (Yale University School of Medicine), Paul Wassarman (Mount Sinai School of Medicine), Fiona Watt (Cancer Research, UK), Clare Waterman-Storer (The Scripps Research Institute), Fiona Watt (Cancer Research, UK), John Watts (John Innes Institute, Norwich, UK), Klaus Weber (Max planck Institute for Biophysical Chemistry, Gottingen), Martin Weigert (Institute of Cancer Research, Philadelphia), Harold Weintraub (deceased), Karsten Weis (University of California, Berkeley), Irving Weissman (Stanford University), Jonathan Weisjman (University of California, San Francisco), Norman Wessells (Stanford University), Judy White (University of Virginia), Steven West (Cancer Research, UK), William Wickner (Dartmouth College), Michael Wilcox (deceased), Lewis T. Williams (Chiron Corporation), Keith Willison (Chester Beatty Laboratories, London), John Wilson (Baylor University), Alan Wolffe (deceased), Richard Wolfenden (University of North Carolina, Chapel Hill), Sandra Wolin (Yale University School of Medicine), Lewis Wolpert (University College London), Rick Wood (Cancer Research, UK), Abraham Worcel (University of Rochester), Nick Wright (Cancer Research, UK), John Wyke (Beatson Institute for Cancer Research, Glasgow), Keith Yamamoto (University of California, San Francisco), Charles Yocum (University of Michigan, Ann Arbor), Peter Yurchenco (UMDNJ, Robert Wood Johnson Medical School), Rosalind Zalin (University College London), Patricia Zambryski (University of California, Berkeley).

Генетический код

| 1-ое положение (5'-конец) | 2-ое положение | | | | 3-е положение (3'-конец) |
|------------------------------|----------------|----------|-------------|-------------|-----------------------------|
| ↓ | U | C | A | G | ↓ |
| U | Phe | Ser | Tyr | Cys | U |
| | Phe | Ser | Tyr | Cys | C |
| | Leu | Ser | STOP | STOP | A |
| | Leu | Ser | STOP | Trp | G |
| C | Leu | Pro | His | Arg | U |
| | Leu | Pro | His | Arg | C |
| | Leu | Pro | Gln | Arg | A |
| | Leu | Pro | Gln | Arg | G |
| A | Ile | Thr | Asn | Ser | U |
| | Ile | Thr | Asn | Ser | C |
| | Ile | Thr | Lys | Arg | A |
| | Met | Thr | Lys | Arg | G |
| G | Val | Ala | Asp | Gly | U |
| | Val | Ala | Asp | Gly | C |
| | Val | Ala | Glu | Gly | A |
| | Val | Ala | Glu | Gly | G |

АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ ОБОЗНАЧЕНИЯ

КОДОНЫ

| | | | |
|---|-----|-----------------------|-------------------------|
| A | Ala | Аланин | GCA GCC GCG GCU |
| C | Cys | Цистеин | UGC UGU |
| D | Asp | Аспарагиновая кислота | GAC GAU |
| E | Glu | Глутаминовая кислота | GAA GAG |
| F | Phe | Фенилаланин | UUC UUU |
| G | Gly | Глицин | GGA GGC GGG GGU |
| H | His | Гистидин | CAC CAU |
| I | Ile | Изолейцин | AUA AUC AUU |
| K | Lys | Лизин | AAA AAG |
| L | Leu | Лейцин | UUA UUG CUA CUC CUG CUU |
| M | Met | Метионин | AUG |
| N | Asn | Аспарагин | AAC AAU |
| P | Pro | Пролин | CCA CCC CCG CCU |
| Q | Gln | Глутамин | CAA CAG |
| R | Arg | Аргинин | AGA AGG CGA CPG CGG CGU |
| S | Ser | Серин | AGC AGU UCA UCC UCG UCU |
| T | Thr | Треонин | ACA ACC ACG ACU |
| V | Val | Валин | GUA GUC GUG GUU |
| W | Trp | Триптофан | UGG |
| Y | Tyr | Тирозин | UAC UAU |



Полный ассортимент литературы издательств
«Институт компьютерных исследований»
и «Регулярная и хаотическая динамика»
по самым доступным ценам представлен
в отделах прямых продаж:

R&C
Dynamics

Россия, Москва

Институт машиноведения им. А. А. Благонравова РАН
ул. Бардина, д. 4, корп. 3, к. 415
тел.: +7 (495) 641–69–38, факс: +7 (499) 135–54–37
e-mail: rhd-m@mail.ru

Россия, Ижевск

Удмуртский государственный университет
ул. Университетская, д. 1, корп. 4, оф. 201а/207
тел./факс: +7 (3412) 50–02–95
e-mail: subscribe@rcd.ru

Интернет-магазин

MAHESIS

<http://shop.rcd.ru>

- Отправка заказов осуществляется почтой РФ из г. Ижевска
- Цены на сайте указаны без учета стоимости доставки

Книги можно приобрести также:

Московский дом книги

Москва, ул. Новый Арбат, д. 8 (м. «Арбатская»)
Тел.: +7 (495) 789–35–91

Дом технической книги

Москва, Ленинский проспект, д. 40
(м. «Ленинский Проспект»)
Тел.: +7 (499) 137–60–19

Книжные киоски ООО «Аргумент»

Москва, Ленинский проспект, д. 65
(м. «Ленинский Проспект») Главное здание
РГУ нефти и газа им. И. М. Губкина

ООО «Санкт-Петербургская книготорговая компания»

Санкт-Петербург, ул. Капитана Воронина, д. 8
Тел.: +7 (812) 295–06–57

ООО «Киви»

Самара, ул. Ново-Садовая, д. 381, 4-й этаж —
«ТЦ на Ново-Садовой»
Тольятти, ул. Дзержинского, 21, минус 1-й этаж,
секция 803а — ТЦ «Капитал»

ООО «Пермкнига»

Пермь, ул. Лодыгина, д. 6
Тел.: +7 (342) 242–84–90, 242–72–74

ООО «Издательство «Инфра-Инженерия»

Вологда, ул. Машиностроительная, д. 19, оф. 238
Тел.: +7 (911) 512–48–48

ООО «ВЕЛЕС»

Омск
тел.: +7 (3812) 46–31–12, 46–31–41

Брюс Альбертс, Александр Джонсон, Джулиан Льюис,
Мартин Рэфф, Кит Робертс, Питер Уолтер

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ КЛЕТКИ

Том III

Ответственный редактор Л. В. Мочалова

Дизайнер ? . ? . ?

Технический редактор А. В. Бакиев

Компьютерный набор и верстка Н. С. Агафонова

Корректор О. А. Шемякина

Подписано в печать 02.09.2011. Формат 70 × 100 1/16.

Печать офсетная. Усл. печ. л. ????. Уч. изд. л. ?????.

Гарнитура ????. Бумага офсетная №1.

Тираж ????. экз. Заказ № .

Научно-издательский центр «Регулярная и хаотическая динамика»

426034, г. Ижевск, ул. Университетская, 1.

<http://shop.rcd.ru> E-mail: mail@rcd.ru Тел./факс: +7(3412) 500–295