

АРОМОРФОЗЫ И АДАПТИВНАЯ МОЛЕКУЛЯРНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ

К.В. Гунбин, В.В. Суслов, Н.А. Колчанов

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: genkvg@bionet.nsc.ru

С использованием компьютерной технологии GeneNet на основе экспериментальных данных, представленных в научных публикациях, реконструированы генные сети трех каскадов передачи сигналов: Hh, Dpp/BMP, Wg/WNT, играющие важную роль в эмбриогенезе животных. На основе информации из баз данных GenBank, Ensembl сформированы выборки ключевых генов этих генных сетей и исследованы закономерности их молекулярной эволюции. Выявление адаптивной эволюции кодирующих белок районов генов осуществлялось по критерию Kn/Ks, характеризующему отношение скоростей фиксации несинонимичных (Kn) и синонимичных (Ks) замен. Адаптивная эволюция морфогенов, их рецепторов и белков, передающих сигнал от морфогена через цитоплазму, во всех трех каскадах часто коррелирует друг с другом на эволюционном дереве и в большинстве случаев соответствует диверсификации членистоногих и хордовых. Обсуждается связь между адаптивной эволюцией Hh, BMP, WNT-каскадов и молекулярно-генетическими механизмами ароморфозов.

1. Введение

По данным палеонтологии скорость эволюции непостоянна: долгие периоды (десяtkи и сотни миллионов лет) относительной стабильности морфологии (стазис) могут сменяться краткими (не более десятка миллионов лет) эволюционными взрывами, когда резкие изменения морфологии дают множество новых планов строения (Симпсон, 1948; Красилов, 1986; Марков, 2001; Рожнов, 2005). Хорошо изучен, например, «кембрийский взрыв» (~550 млн лет назад), когда на границе протерозоя и кембрия появились практически все известные нам типы Bilateria со свойственными им планами строения тел (Соколов, Федонкин, 1988; Morris, 2000; Пономаренко, 2005). Меньшими по масштабу, но не по значению всплесками эволюции морфогенеза сопровождалось освоение суши беспозвоночными (Belayeva *et al.*, 2002) и хордовыми в силуре–девоне (Ahlberg, Clack, 2006; Daeschler *et al.*, 2006; Shubin *et al.*, 2006). Каковы же молекулярные механизмы непостоянства скорости эволюции?

Морфология организма формируется в результате функционирования генных сетей эмбриогенеза. При независимой адаптивной эволюции по многим локусам под негативный

отбор хотя бы по одному из них попадет каждая из особей популяции, что ведет популяцию к гибели (дилемма Холдейна). Для популяций эвкариот с характерной эффективной численностью ~10000 особей число одновременно эволюционирующих генов не может превышать 10–15 (Ратнер и др., 1985). Итак, в каждый момент времени геном любого вида эвкариот имеет очень узкое «окно» для адаптивной эволюции. При таком ограничении актуальным становится блочно-модульный тип эволюции – комбинаторика относительно автономных генных сетей, каждая из которых ответственна за определенную функцию при формировании того или иного признака (группы признаков). Преимуществом блочно-модульной эволюции, отмеченным еще В.А. Ратнером, является то, что каждый блок уже «апробирован» отбором в ходе предшествующей эволюции (Ратнер и др., 1985; Ратнер, 2002).

Расшифровка генных сетей эмбриогенеза билатерий выявила их блочно-модульный характер. Блоки генных сетей образуют иерархическую структуру, в которой порядок и время включения модулей соответствует формированию компартментов из клеток эмбриона (рис. 1). Связь между блоками генных сетей осуществляют сигнальные молекулы, обеспечивающие

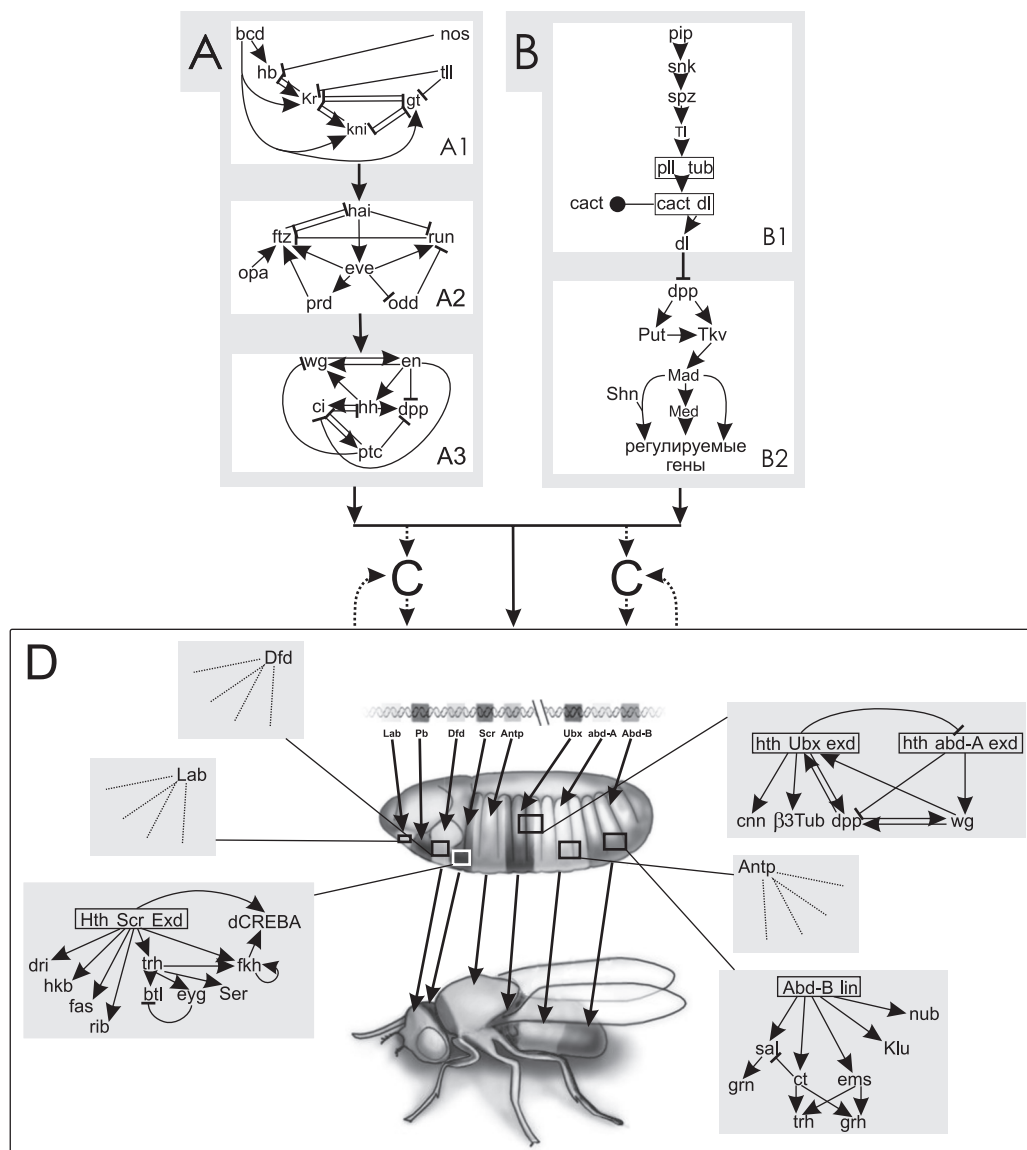


Рис. 1. Генная сеть эмбриогенеза *D. melanogaster* (упрощенно).

А – подсеть становления и спецификации антерио-постериорной оси тела; В – то же для дорсовентральной оси. Обе подсети работают в раннем эмбриогенезе параллельно и состоят из иерархически связанных блоков. Подсеть А: блок А1 – становление антерио-постериорной оси тела – состоит из *gap*-генов и отвечает за появление градиентов морфогенов от передней к задней части яйцеклетки; блок А2 – начальные этапы сегментации – состоит из генов парного правила; блок А3 – гены сегментной полярности завершают разделение клеточной бластодермы на сегменты (Nasiadka *et al.*, 2002; Stathopoulos, Levine, 2002). Подсеть В: В1 – блок определения вентральной стороны яйца за счет формирования градиента белка *dl* (Riechmann, Ephrussi, 2001); В2 – блок формирования градиента белка *dpp*, контролирующего дифференцировку тканей дорсальной стороны эмбриона (Ashe *et al.*, 2000; Weigmann *et al.*, 2003).

Генные сети позднего эмбриогенеза *D. melanogaster* запускаются генной сетью раннего эмбриогенеза и ответственны за спецификацию и дифференцировку сегментов. С – подсеть регуляции миграции клеток при образовании сегментов эмбриона (Bradley *et al.*, 2001; Ribeiro *et al.*, 2003; D – подсеть сегмент-специфического органогенеза. Подсеть D содержит множество блоков, каждый из которых регулируется продуктами определенных *Hox*-генов (Weigmann *et al.*, 2003) и компонентами сигнальных каскадов, в том числе Hg, Dpp/BMP и WNT (Hombria, Lovegrove, 2003).

дальние (градиент морфогена) или ближние (межклеточные контакты) взаимодействия, которые затем через генные сети сигнальных путей передаются в ядро клеток (Gilbert, 2003). Важно, что набор сигнальных молекул и путей передачи сигналов сравнительно невелик по сравнению с общим количеством генов и консервативен у всех билатерий, что говорит об их появлении у общего предка этой группы на заре ее эволюции (Held, 2002; Pires-da Silva, Sommer, 2003).

Так, несмотря на огромные различия морфологии билатерий молекулярная основа межклеточных взаимодействий у них едина – это семь основных путей передачи сигналов: Wnt, TGF- β , Hh, RTK, JAK/STAT, Notch, путь передачи ядерных рецепторов (Held, 2002; Pires-da Silva, Sommer, 2003), причем усложнение их генных сетей прямо коррелирует с усложнением многоклеточных (табл. 1).

С другой стороны, одни и те же сигнальные молекулы эмбриогенеза могут регулировать одновременно несколько блоков генных сетей (блоки частично перекрываются) (рис. 1), что налагает второе ограничение на скорость эволюции – чем выше функциональная нагрузка генов, тем менее вероятна их эволюция из-за плейотропного эффекта. Эти соображения, эмпирически высказанные в середине XX в. известными эволюционистами И.И. Шмальгаузен (Шмальгаузен, 1968) и Уоддингтоном

(Waddington, 1975), подтверждены прямыми молекулярно-генетическими исследованиями: анализ различных групп генов млекопитающих показал, что гены, экспрессирующиеся, по данным EST, в среднем в одной ткани, в 3–4 раза чаще фиксируют несинонимичные замены, чем гены, экспрессирующиеся в 16 и более тканях (Duret, Mouchiroud, 2000). Следовательно, чем сложнее организм, чем больше у него клеток и тканей, тем выше вероятность адаптивной эволюции гена.

Являясь передатчиками внешних сигналов на ядро клетки, сигнальные каскады играют роль переключателей между блоками генных сетей. Комбинаторика связей между блоками генных сетей развития – перспективный путь эволюции многоклеточных, поэтому тесная связь между ароморфозами и адаптивной молекулярной эволюцией весьма вероятна. Исходя из этих соображений, мы попытались выявить связь между ароморфозами билатерий и адаптивной эволюцией генов трех тесно взаимодействующих в их эмбриогенезе каскадов передачи сигналов: Hh, Dpp/BMP, WG/WNT. Как оказалось, адаптивная эволюция морфогенов, их рецепторов и белков, передающих сигнал от морфогена через цитоплазму, во всех трех каскадах часто коррелирует друг с другом на эволюционном дереве и во многих случаях соответствует диверсификации членистоногих и хордовых.

Таблица 1

Число компонентов путей передачи сигналов у разных видов организмов

Путь передачи сигнала	Количество компонентов пути передачи сигнала у различных видов организмов			
	<i>Homo sapiens</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Лиганды				
RTK	48	3	4	0
TGF- β	29	6	4	0
Wnt	18	7	5	0
Notch	3	2	2	0
STAT	7	1	1	0
Рецепторы				
RTK	25	6	1	0
Wnt	12	6	5	0
NHR	59	25	270	1

2. Материалы и методы

2.1. Реконструкция генных сетей сигнальных каскадов Hh, Dpp/BMP, Wg/WNT

Реконструкцию генных сетей сигнальных каскадов Hh, Dpp/BMP, Wg/WNT проводили по данным литературы в базе GeneNet, используя систему интерактивного ввода данных через Интернет (Ananko *et al.*, 2002) на основании более 300 научных публикаций.

2.2. Анализ адаптивной эволюции генов сигнальных каскадов

Работа включала 5 этапов: 1) получение выборки нуклеотидных и белковых последовательностей определенного белкового семейства; 2) выравнивание белковых последовательностей; 3) построение филогенетических деревьев; 4) поиск адаптивно эволюционирующих районов белков; 5) поиск ветвей деревьев, на которых предположительно проходила адаптивная эволюция этих районов белков.

2.2.1. Получение выборки аминокислотных последовательностей. Выборки для определенного белкового семейства получали с помощью PSI-BLAST (15–30 итераций) (Altschul *et al.*, 1997) в базе данных GenBank (Pruitt *et al.*, 2005) и в базе данных Ensembl (Hubbard *et al.*, 2005) (с помощью средств выявления кластеров ортологов последней базы данных (Enright *et al.*, 2002)). Затем проводился поиск последовательностей кДНК, кодирующих найденные белки в базах данных GenBank и Ensembl. Все последовательности, аннотированные в базах данных GenBank и Ensembl как фрагменты, из дальнейшего анализа исключались. В качестве поисковых запросов использовались экспериментально аннотированные аминокислотные последовательности белков позвоночных и беспозвоночных.

2.2.2. Выравнивание белковых последовательностей. Из-за недостатка данных о полных трехмерных структурах белков процедура множественного выравнивания на основе данных о первичной структуре до сих пор остается главным затруднением в процессе сравнения генов и белков разных видов организмов. Учитывая это, работу проводили с помощью группы

различных программ CLUSTALW (Thompson *et al.*, 1994), T-COFFEE (Notredame *et al.*, 2000), MAFFT (Kato *et al.*, 2005a), MUSCLE (Edgar, 2004), PROBCONS (Do *et al.*, 2005). Множественные выравнивания, сделанные с помощью программ CLUSTALW, DIALIGN-T и T-COFFEE, подвергались процедуре улучшения с помощью пакета программ RASCAL (Thompson *et al.*, 2003). Обязательным этапом работы, следующим за выравниванием аминокислотных последовательностей, была проверка качества выравнивания с использованием информации из баз данных ProSite (Hulo *et al.*, 2004) и NCBI CDD (Marchler-Bauer *et al.*, 2005) о консервативных районах белков. Из набора множественных выравниваний, сделанных с помощью вышеперечисленных программ, выбирались два лучших (на основании качества выравнивания консервативных доменов белков). Качество выравнивания оценивалось по наибольшему количеству полных столбцов множественного выравнивания, содержащихся в консервативных районах белка. По выравниванию аминокислотных последовательностей строилось выравнивание последовательностей кДНК с последующим удалением делеций.

2.2.3. Построение филогенетических деревьев. Филогенетические деревья строились по двум наилучшим множественным выравниваниям аминокислотных последовательностей методом максимального правдоподобия, реализованным в программах PHYML (Guindon, Gascuel, 2003) и TREE-PUZZLE (Schmidt *et al.*, 2002).

Обязательным этапом работы, предшествующим построению филогенетических деревьев, являлся поиск наиболее оптимальной модели эволюции белковых последовательностей с помощью пакета программ PROTTEST (Abascal *et al.*, 2005). Наиболее оптимальная модель эволюции определенного семейства белков использовалась в дальнейшем для реконструкции филогении с помощью вышеперечисленных программ.

Существенным этапом работы, следующим за построением филогенетических деревьев, являлся анализ достоверности топологии построенных филогенетических деревьев с использованием информации баз данных TreeBase (Morell, 1996) и Tree of Life (The Tree..., 2005).

Помимо сравнения топологии реконструированных филогенетических деревьев с топологиями деревьев в базах данных TreeBase и Tree of Life, реконструированные филогенетические деревья сравнивались по общей длине ветвей. Дерево, имеющее наименьшую длину ветвей и топологию, согласующуюся с базами данных TreeBase и Tree of Life, считалось лучшим.

2.2.4. Выявление адаптивной эволюции.

Формально под адаптивной эволюцией будем понимать превышение доли фиксированных несинонимичных замен (Kn) над синонимичными (Ks) (Li *et al.*, 1985) в белок-кодирующей части гена, оцениваемое величиной Kn/Ks. Важно, что подобные изменения на уровне ДНК могут коррелировать с изменением физико-химических свойств аминокислот в белке, что нами и было обнаружено. О функциональной нагрузке эволюционирующих районов генов (белков) информация бралась из литературных источников (см. 2.1.).

2.2.4.1. Поиск адаптивно эволюционирующих районов генов и белков производился на выравниваниях без делеций. Выравнивания нуклеотидных последовательностей строились по выравниваниям аминокислотных последовательностей.

Поиск адаптивно эволюционирующих районов генов проводился различными методами: методом Неи и Годжобори с помощью программы SNAP по нуклеотидным последовательностям (Nei, Gojobori, 1986); методом максимального правдоподобия по нуклеотидным последовательностям без процедуры симуляции эволюции (ADAPTSITE) (Suzuki *et al.*, 2001) и с процедурой Монте Карло симуляции эволюции (PLATO) (Grassly, Holmes, 1997) или по аминокислотным последовательностям – RATE4SITE (Pupko *et al.*, 2002). Наличие адаптивно эволюционирующего участка гена/белка полагалось при нахождении идентичного участка с помощью 3 или более использованных программ.

2.2.4.2. Парное сравнение последовательностей генов. Для поиска ветвей филогенетических деревьев, на которых предположительно проходила адаптивная эволюция генов, проводилось только парное сравнение последовательностей, реконструкция предковых нуклеотидных последовательностей вследствие низкой гомологии нуклеотидных последовательностей пол-

ностью исключалась. Важно, что анализу подвергались лишь те участки генов, которые были выявлены на предыдущем этапе (см. 2.2.4.1.). Проводилось только попарное сравнение последовательностей. Анализ проводился с помощью программ K-ESTIMATOR (Comeron, 1999), KHKs (Tang, Wu, 2006), MEGA3 (Kumar *et al.*, 2004) и пакетом программ PAML – YN00 (Yang, 1997). Расчет числа синонимичных трансверсий посредством DAMBE (Xia, Xie, 2001) и попарных различий аминокислотных последовательностей посредством TREE-PUZZLE (Schmidt *et al.*, 2002) проводился для вычисления отношения WAG/NED. Результаты анализа каждым методом взвешивались по следующей схеме: 1) находилось среднее арифметическое $\bar{S}_i$ для всех результатов (попарных сравнений), полученных методом i ; 2) для исключения влияния на результат анализа «выбросов» находилась медиана $\bar{M}$ среди всех среднеарифметических $\bar{S}_i$, полученных для каждого метода; 3) находился нормировочный коэффициент ($\bar{M} / \bar{S}_i$) для метода i , на который умножались все значения, полученные с помощью метода i ; 4) для каждого конкретного результата (попарного сравнения) находилась медиана m . В результате такого анализа было выделено несколько категорий m (рис. 4–11): 1) значения m , лежащие в диапазоне 0–0,9, принимаемые нами за отсутствие адаптивной эволюции; 2) значения m диапазона 0,9–1,0, интерпретируемые нами как вероятное наличие адаптивной эволюции (выделены серым цветом на ветвях филогенетических деревьев); 3) значения m диапазона $\geq 1,0$, интерпретируемые нами как определенное наличие адаптивной эволюции (выделены черным цветом на ветвях филогенетических деревьев). Для локализации событий адаптивной эволюции были важны только две последние категории значений m . Детальные результаты парного сравнения последовательностей генов даны в Приложении.

Кроме прямого попарного сравнения кодирующих последовательностей генов было проведено моделирование эволюции генов (Gunbin *et al.*, 2007).

2.2.4.3. Картирование событий адаптивной эволюции на ветвях филогенетического дерева основывалось на анализе результатов парных сравнений генов. Для поиска ветвей филогенетических деревьев, на которых проходила

адаптивная эволюция, в анализ брались виды, которые были относительно близки к корням анализируемых поддеревьев. Это было сделано потому, что целью настоящей работы являлся поиск событий адаптивной эволюции генов многоклеточных животных, приуроченный к ранним этапам их эволюции.

Допустим, что поддерева а и б имеют общий корень, расположенный на общем дереве в (рис. 2). Считалось, что адаптивная эволюция локализуется на ветвях общего дерева, идущих от корня а–б к поддеревам а и б (рис. 2), если соблюдаются два условия: 1) все ветви (виды), отходящие от корня поддерева а, адаптивно эволюционируют по отношению к ветвям (видам) поддерева б; 2) все или почти все (не менее 80 %) ветви (виды) поддерева а, которые не отходят от корня а–б, адаптивно эволюционируют по отношению к ветвям (видам) поддерева б, которые также не отходят от корня а–б.

3. Результаты

3.1. Реконструкция компонентов сигнальных каскадов

Классическая модель Нh-каскада передачи сигналов у насекомых состоит в серии сле-

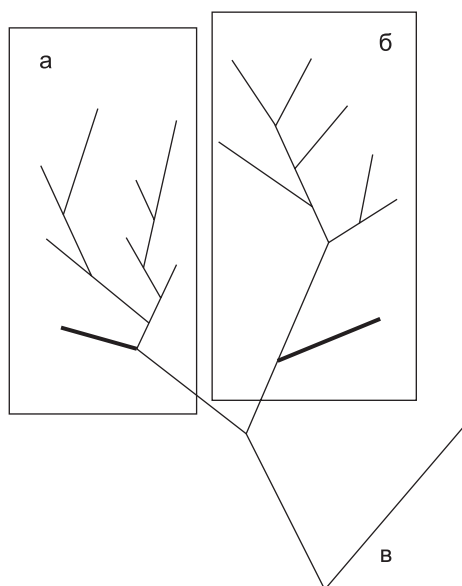


Рис. 2. Принцип локализации событий адаптивной эволюции на филогенетическом дереве, примененный в работе (см. текст). Выделены прикорневые ветви поддеревьев а и б дерева в.

дующих событий (Ingham, McMahon, 2001; Nybakken, Perrimon, 2002; Шаталкин, 2003; Cohen, 2003; Lum, Beachy, 2004; Gunbin *et al.*, 2004) (рис. 3а). В отсутствие морфогена Нh его мембранный рецептор, белок Ptc, ингибирует передачу сигнала внутрь клетки, блокируя действие белка Smo (по структуре сходного с рецепторами G-белков), на ассоциированный с цитоскелетом высокомолекулярный комплекс белков Cos2, Fu и Ci.

В отсутствие белка Нh транскрипционный фактор Ci в таком комплексе подвергается расщеплению. Его N-концевой фрагмент транспортируется в ядро и репрессирует каскаду генов. Slmb-убиквитин-лигаза инициирует сайт-специфический протеолиз белка Ci. Таким образом, Slmb, отвечая за убиквитинизацию Ci, регулирует соотношение активаторной и ингибиторной форм белка Ci в цитоплазме. Взаимодействие с рецептором Ptc морфогена Нh, активированного холестерином и прошедшего белковый сплайсинг, снимает ингибиторный эффект Ptc на белок Smo.

Активированный Smo инициирует серию реакций: комплекс Fu/Cos2/Ci отщепляется от цитоскелета, Fu и Cos2 гиперфосфорилируются, что ведет к стабилизации полноразмерного Ci и к его транспортировке в ядро, где он активирует транскрипцию каскада генов. Этому процессу противодействует белок Su(Fu), вовлеченный в процесс удержания Ci в цитоплазме путем связывания с Fu и Ci.

У млекопитающих выявлено три гомолога гена Нh: *Desert hedgehog* (*Dhh*), *Indian hedgehog* (*Ihh*) и *Sonic hedgehog* (*Shh*) (Echelard *et al.*, 1993; Katoh Y., Katoh M., 2005). По-видимому, *Dhh* как наиболее близкий к *Hh* является его ортологом, тогда как *Ihh* и *Shh* возникли вследствие серии последующих дупликаций, о чем свидетельствует их взаимная тесная гомология. Интересно, что в линии лучеперых рыб уже после отделения ее от кистеперых произошла дупликация всего генома (de Souza *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2006), что вызвало рост числа паралогов *Shh* и *Ihh* (Krauss *et al.*, 1993; Ekker *et al.*, 1995; Currie, Ingham, 1996). Кроме того, у позвоночных выявлено три гомолога гена Ci: *Gli1*, *Gli2*, *Gli3*. Белок Smo, свободный от ингибирования посредством Ptc, концентрирует свою активность на двух (*Gli3* и *Gli2*) из трех

белков Gli (Ho, Scott, 2002; Ruiz i Altaba *et al.*, 2002; Huangfu, Anderson, 2006). Транскрипционный фактор Gli3, вероятно, является важнейшим – только он в отсутствие Smo подвергается так же, как и Ci, протеолизу, и в укороченном состоянии непосредственно или совместно с Gli2 репрессирует экспрессию эффекторных генов Hh-каскада и, возможно, генов *Gli* (Ho, Scott, 2002; Ruiz i Altaba *et al.*, 2002; Stecca, Ruiz i Altaba, 2005; Huangfu, Anderson, 2006).

Следовательно, схемы поддержания точного баланса между активаторными и ингибиторными формами транскрипционных факторов семейства Ci(Gli) у позвоночных и насекомых различаются (рис. 3а). В отличие от беспозвоночных в Nh-каскаде позвоночных 1) существ-

вуют три активирующие транскрипцию формы белков Gli–Gli1, Gli2 и непротранскрибированный Gli3, а также две формы, ингибирующие транскрипцию – модифицированный Gli2 и протранскрибированный Gli3; 2) активаторные формы Gli регулируют собственные гены *Gli1*, *Gli2*, формируя петлю положительной обратной связи, которой нет у беспозвоночных; 3) транскрипция гена *Gli3* в Nf-каскаде подавляется белками, не относящимися к семейству Gli (Aza-Blanc *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2000; Ho, Scott, 2002; Regl *et al.*, 2002; Ruiz i Altaba *et al.*, 2002; Ikram *et al.*, 2004; Tyurina *et al.*, 2005).

Таким образом, у позвоночных есть дополнительные петли положительных и отрицательных обратных связей, устанавливающие опре-

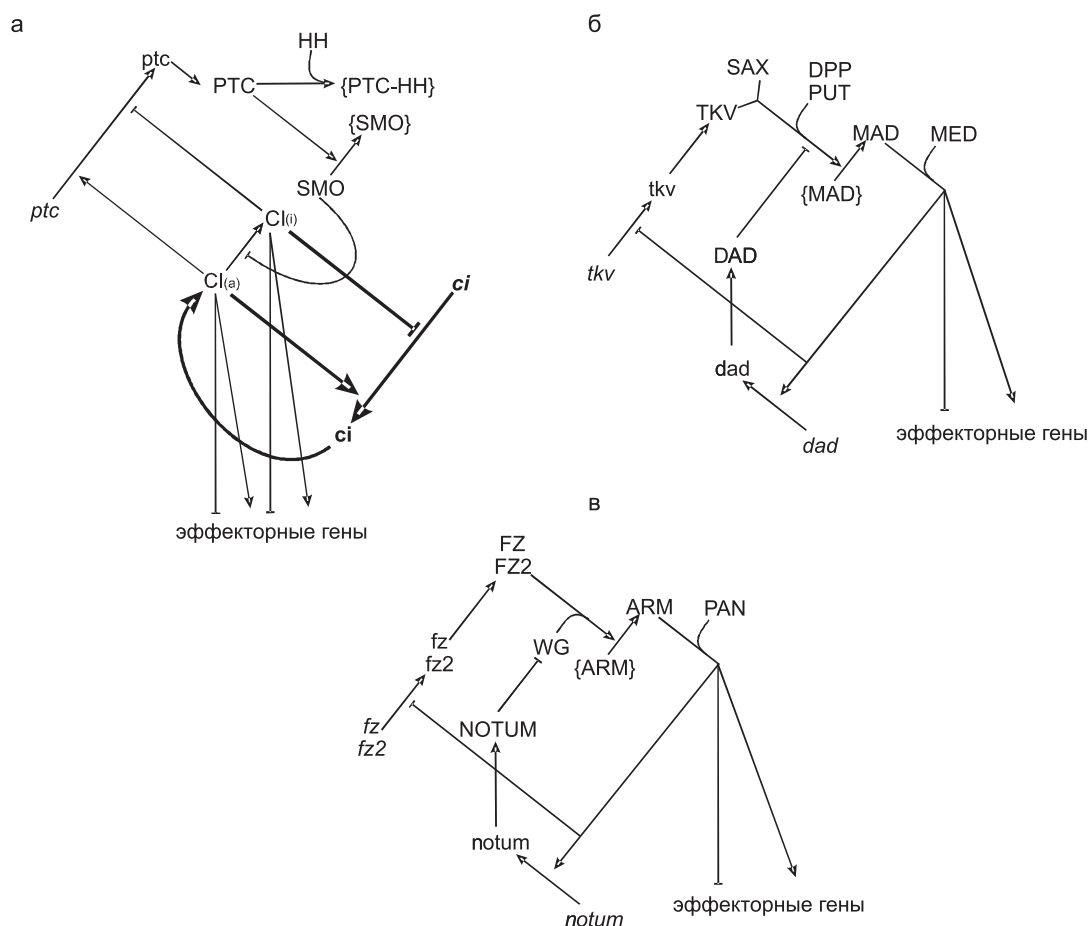


Рис. 3. Схема каскадов сигналов, детерминирующих развитие многоклеточных животных. а – Hh-каскад, жирным выделена специфичная для млекопитающих часть каскада; б – Dpp/BMP-каскад; в – Wg/WNT-каскад.

Стрелки с острым окончанием – активирующие связи, стрелки с тупым окончанием – ингибирующие связи. В фигурных скобках показаны неактивные компоненты. Курсивом строчными буквами на рисунках даны названия генов, строчными буквами прямым шрифтом – мРНК, прямым шрифтом прописными буквами – белки.

деленный уровень экспрессии эффекторных генов Hh-каскада (рис. 3а). Кроме того, наличие транскрипционных факторов Gli1 и Gli2 у позвоночных расширяет спектр генов, экспрессию которых может регулировать Hh-каскад, что способствует более тонкой настройке тканеспецифичных ответов на равные дозы морфогена (Huangfu, Anderson, 2006).

Часто в сочетании с Hh действует каскад WNT (рис. 3в). Взаимодействуя с рецепторами Fz и Fz2, принадлежащими к тому же семейству, что и Smo, транскрипционный фактор Wg у дрозофилы запускает цепь передачи сигналов, оканчивающуюся на белке Arm, который, соединяясь в цитоплазме с белком Pan, образует комплекс, способный транспортироваться в ядро. Здесь, взаимодействуя с транскрипционными комплексами Hh и DPP каскадов, он принимает участие в регуляции генов. Ортологом Wg у млекопитающих является ген *Wnt-1* (Akiyama, 2000; Шаталкин, 2003; Gunbin *et al.*, 2004).

Белок Dpp (и его гомологи у млекопитающих BMP2/BMP4) является членом обширного семейства TGF- β белков (бета-трансформирующий фактор роста) и участвует как в детерминации осей тела, так и в органогенезе (рис. 3б). Как у беспозвоночных, так и у позвоночных выявлены тканеспецифичные паралоги Dpp, усиливающие его активность в соответствующих тканях (Screw, Glass bottom boat – 60A у дрозофилы и их гомологи BMP5/BMP6/BMP7 у позвоночных) (Tsumaki *et al.*, 2002; Шаталкин, 2003; Chen *et al.*, 2004a, b).

В мономерной форме морфоген не активен, гомодимерная форма активна, а различные гетеродимерные формы, образуемые комбинацией паралогов, обуславливают специфику морфогенетического ответа клеток. Взаимодействуя с рецептором Put, они активируют его. В результате Put образует гетеродимеры с рецепторами Tkv и Sax и фосфорилирует их, затем происходит фосфорилирование белка R-Smad, вследствие чего меняется его конформация (Massague, 1996; Chen *et al.*, 2004a, b). R-Smad соединяется с Co-Smad, образуя транскрипционный комплекс, передающий сигнал на каскаду генов. Белок Shn защищает этот комплекс от ингибирующего действия белка Brk (Raftery, Sutherland, 2003; del Alamo Rodriguez *et al.*, 2004; O'Connor *et al.*, 2006).

Несмотря на сложный аппарат передачи сигнала в цитоплазме, связанный с формированием мультимерного комплекса на цитоскелете и процессингом белков в Hh-каскаде, видно, что все три каскада качественно организованы одинаково¹. Рассматривая их, можно отметить три точки, ускоренная эволюция которых могла существенно изменить динамику морфогенеза и/или вызвать переключение сигнала с одного блока генных сетей морфогенеза на другой: 1) скорость и место ответа на морфоген (сигнал); 2) специфичность действия сигнала в отдельных типах клеток, принадлежащих различным тканям; 3) степень интеграции данного каскада передачи сигналов с другими путями передачи сигналов, ответственными за клеточный цикл и процессы дифференцировки.

3.2. Выявление адаптивного режима эволюции в генных сетях сигнальных каскадов

3.2.1. Адаптивная эволюция морфогенов.

В ходе наших исследований выяснилось, что адаптивная эволюция гена *Hh* коррелирует с возникновением членистоногих и хордовых в ходе кембрийского взрыва, а также с образованием паралогичных групп гена *Hh* у позвоночных до разделения (ориентировочно в девоне) линий кистеперых и лучеперых рыб, что согласуется с предыдущими исследованиями (Kumar *et al.*, 1996; Shimeld, 1999). В линии лучеперых, несмотря на последующую дупликацию их генома и рост числа паралогов, значимой адаптивной эволюции не выявлено. Напротив, в линии потомков кистеперых – тетрапод выявлена адаптивная эволюция, которую можно связать с интенсивными перестройками архетипа при выходе на сушу (см. Приложение).

В белке Hh адаптивная эволюция высокодостоверно связана с С-концом домена интеина, который ответственен за вырезание интеина в ходе белкового сплайсинга Hh (Hall *et al.*, 1997). Напротив, адаптивной эволюции N-конца интеина не было выявлено. N-конец интеина в непротессированном белке (зимоген-

¹ Еще раз оговоримся, что схемы Hh-каскада сигналов у позвоночных и беспозвоночных в деталях различаются: толстые стрелки на рис. 3а отражают специфику Hh-каскада у позвоночных.

не) Hh необходим для связывания холестерина с доменом взаимодействия с рецептором. Без активации холестерином Hh не сможет выполнять свою функцию (см. выше), в силу чего N-конец интеина должен быть под давлением стабилизирующего отбора. После активации холестерином интеин уже не нужен и должен вырезаться из зимогена. Поэтому адаптивная эволюция С-конца интеина может быть связана с тем, что скорость распространения морфогена, т. е. фактически домена белка Hh, связывающегося с рецептором Ptc, должна коррелировать со скоростью вырезания интеина из зимогена Hh (рис. 4).

Еще более обоснованной гипотеза критической роли изменения скорости распространения морфогена в эволюции архетипа становится,

если учесть факт адаптивной эволюции N-конца сигнального домена белка Hh, выявленной как у позвоночных, так и у беспозвоночных. N-конец сигнального домена белка Hh ответственен за связывание пальмитата (Cohen, 2003), которое приводит к существенным изменениям в динамике распространения Hh (рис. 4). Также интересно отметить, что адаптивная эволюция N-конца рецепторного домена Hh отмечается у одного из паралогов гена *Hh-Dhh* у позвоночных (см. Приложение), что должно быть связано с функциональной дифференциацией морфогенов семейства Hh (Kumar *et al.*, 1996; Shimeld, 1999). Разные паралоги гена *Hh* у позвоночных обладают различной тканеспецифичностью. Следовательно, их образование можно связать с возникновением различных тканей в фило-

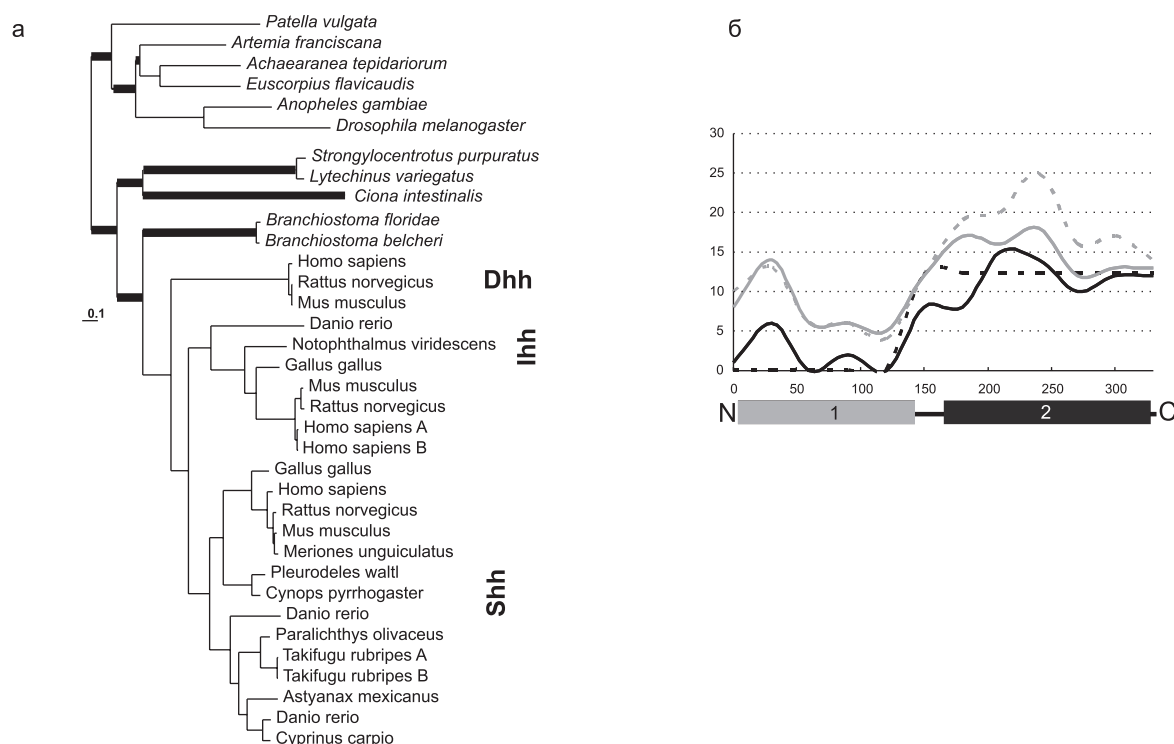


Рис. 4. Адаптивная эволюция генов морфогена *Hedgehog* (*Hh*).

а – привязка к филогенетическому дереву, б – привязка к доменной структуре белка Hh.

Наиболее вероятные филогенетические линии, в которых происходила адаптивная эволюция, выделены на дереве черным цветом, серым на дереве показаны филогенетические линии, на которых адаптивная эволюция, возможно, имела место. Курсивом отмечены названия видов, гены которых анализировались.

Профиль эволюционной лабильности генов (белков) показан на обычных графиках. По оси ординат: для ADAPTSITE, PAML и SNAP – число «адаптивно» эволюционирующих аминокислотных остатков на окно в 30 аминокислот, для PLATO – Z-счет, достоверно отличающийся от случайного. По оси абсцисс – нумерация аминокислот на множественном выравнивании белков с N-конца. SNAP – пунктирная серая линия; ADAPTSITE – цельная серая линия; PLATO – пунктирная черная линия; RATE4SITE – цельная черная линия.

Домены белков даны под графиками: 1 – сигнальный домен Hh; 2 – интеиновый домен.

генезе позвоночных², в частности, с выходом тетрапод на сушу.

Пожалуй, наилучшим из выявленных примеров адаптивной эволюции служит эволюция генов *Dpp/BMP*, коррелирующая с возникновением членистоногих и хордовых и высокодостоверно связанная с доменом, ответственным за гомо- и гетеродимеризацию белка *Dpp/BMP*. Очевидно, что адаптивная эволюция этого домена была связана с диверсификацией морфогенетического действия морфогена в процессе эволюционного усложнения морфологии билатерий, которое, по данным палеонтологии, шло в ходе «кембрийского взрыва» (рис. 5).

² За исключением тех паралогов у лучеперых, образование которых связано с общим удвоением генома предка лучеперых.

Сама по себе необходимость димеризации могла увеличить вероятность дупликаций предкового гена. Отбор должен был поддерживать диверсификацию функций паралогов, которым в противном случае грозит псевдогенизация (см. ниже 4.2.). Разнесение экспрессии паралогов по разным органам и тканям, образование тканеспецифичных паралогов позволяют избежать псевдогенизации. В то же время эксперименты L. Duret и D. Mouchiroud (2000) показывают, что в этом случае дальнейшая адаптивная эволюция паралога становится еще более вероятной. Интересно в связи с этим, что возникающие при этом паралогичные группы *BMP4* и *BMP2* у позвоночных сопровождаются наиболее мощными событиями адаптивной эволюции (рис. 5). Следовательно, так же, как и

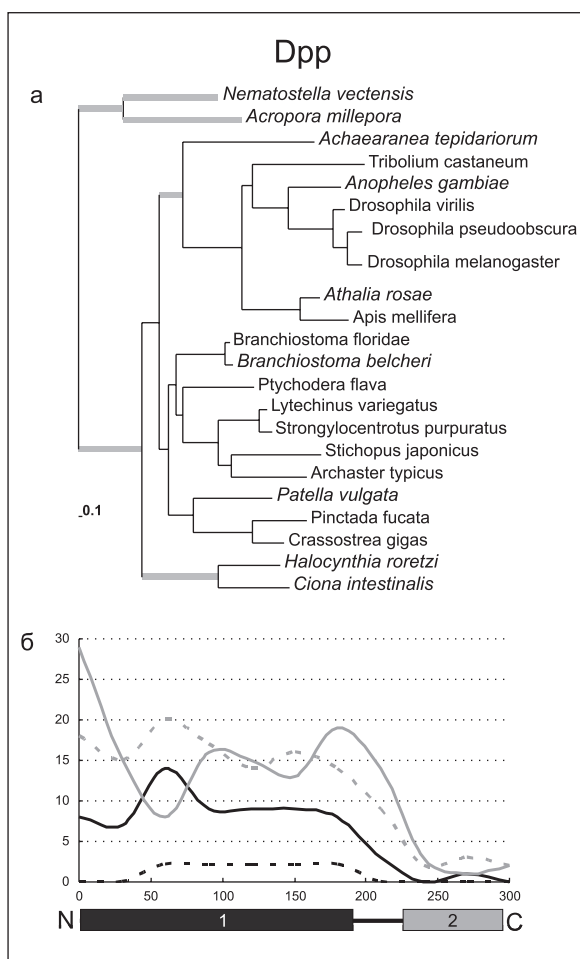
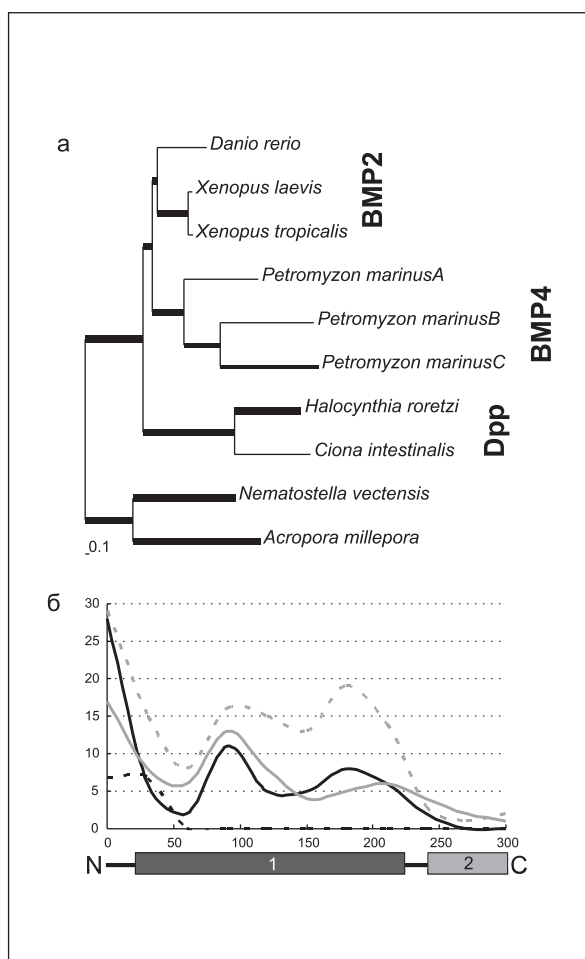


Рис. 5. Адаптивная эволюция генов морфогенов *Dpp* (паралог *BMP* беспозвоночных) и *BMP* при диверсификации билатерий.

Привязка к филогенетическим деревьям (а) и к доменной структуре белков *Dpp* и *BMP* (б). Обозначения как на рис. 4. Домены белков даны под графиками: 1 – LAP-домен (Latency associated peptide), ответственный за димеризацию; 2 – домен TGF- β (Transforming growth factor- β), сигнальный домен.

в случае с эволюцией паралогов *Hh* у позвоночных, адаптивную эволюцию генов *BMP* можно связать с образованием различных тканей в филогенезе позвоночных.

Напротив, после образования паралогов *BMP4* и *BMP2* внутри таксономических групп события адаптивной эволюции гораздо менее заметны. Примечательно, что в группе паралогов *BMP4* адаптивная эволюция генов выявлена только у общего предка челюстноротых (Gnathostomata) и в линии высокоспециализированных современных бесчелюстных (Agnatha) – миног и миксин (рис. 6).

Появление челюстей традиционно связывают с перестройкой жаберных дуг, одна из которых обрела подвижность, что позволяло схватывать добычу (челюсти), а другая стала

ее поддерживать (подвесок). Однако хорошая сохранность недавних находок силурийских агнат с отпечатками мягких тканей позволила детально сравнить морфологию их ротового и жаберного аппаратов с таковой у современных миног, миксин и рыб. Вероятнее всего, обретшие подвижность жаберные дуги должны были находиться в глубине глотки, поэтому их первоначальной функцией могло быть не схватывание добычи, а оптимизация тока воды через жабры (Несис, 1998). У современных круглоротых ротовой и жаберный аппараты тоже сильно перестроены, так как ротовое отверстие при питании полностью перекрыто тканями жертвы. Логично предположить, что адаптивная эволюция группы *BMP4* у общего предка челюстноротых связана с оптимизацией

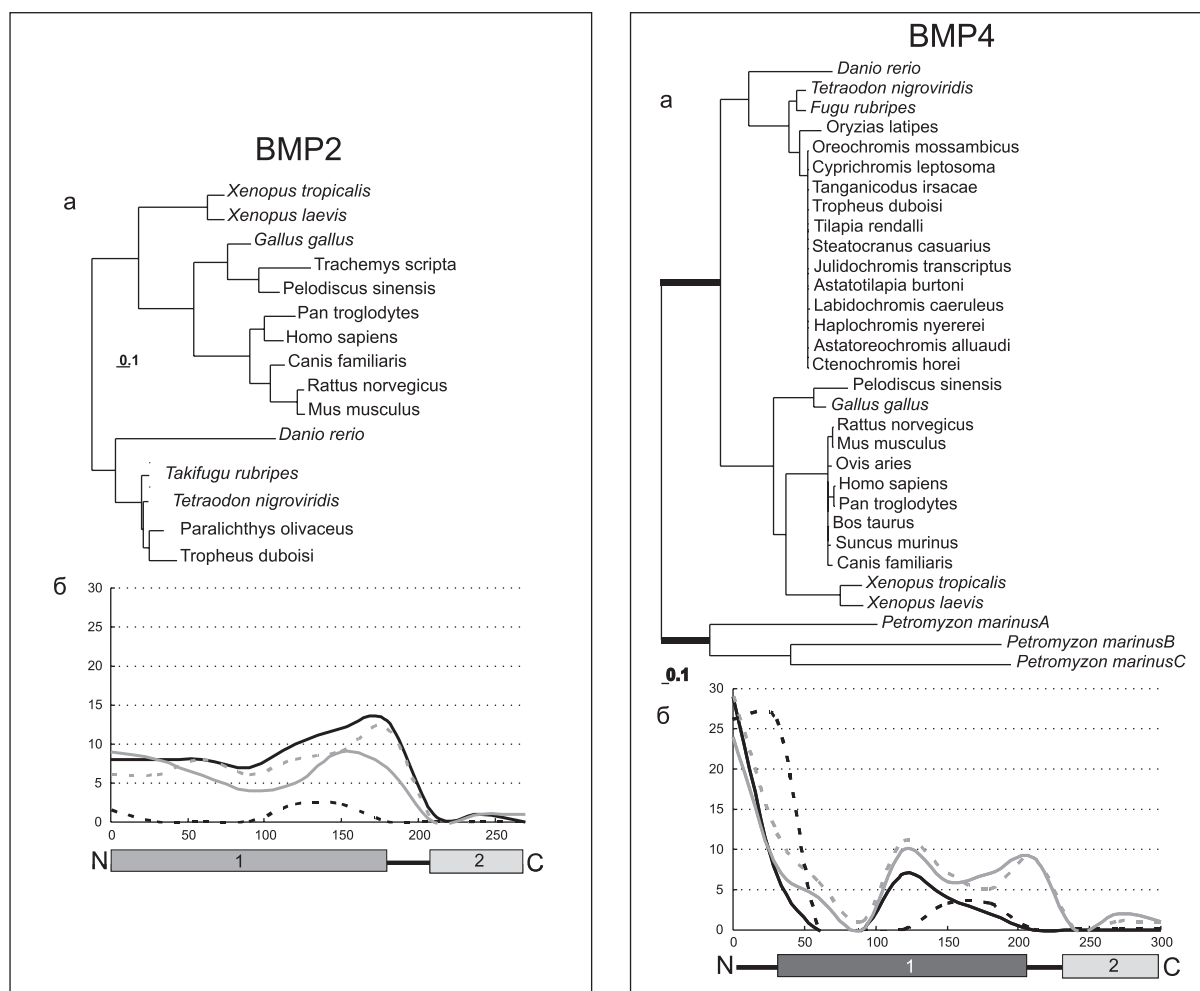


Рис. 6. Адаптивная эволюция паралогов BMP2 и BMP4 в линии Chordata.

Привязка к филогенетическим деревьям (а) и к доменной структуре белков BMP2 и BMP4 (б). Обозначения как на рис. 4. Домены белков даны под графиками: 1 – LAP-домен (Latency associated peptide), ответственный за димеризацию; 2 – домен TGF-β (Transforming growth factor-β), сигнальный домен.

жаберного аппарата еще на стадии агнат. Когда у предков ныне живущих круглоротых началась аналогичная перестройка в связи с приспособлением к полупаразитическому типу питания, группа *BMP4* в этой линии снова начала испытывать движущий отбор.

Так же, как и морфоген *Nh*, морфоген *Wg/WNT* подвергается в процессе созревания реакции связывания пальмитата с N-концом его сигнального домена (домен *WNT-1*), что ведет к существенным изменениям в динамике распространения морфогена (Zhai *et al.*, 2004). Поэтому тот факт, что наиболее сильная адаптивная эволюция локализуется как раз в N-конце домена *WNT-1*, можно объяснить своеобразной молекулярной конвергенцией, когда общий тренд эволюции (изменение морфологии) вызвал у взаимодействующих морфогенов, имеющих общие механизмы модификации белка, одинаковый ответ. Кроме того, на N-конце сигнального домена *Wg/WNT* концентрируются сайты гликозилирования (Han *et al.*, 2004; Kirkpatrick *et al.*, 2004; Panakova *et al.*, 2005), что также говорит в пользу гипотезы об изменениях динамики распространения морфогена в ходе эволюции. Значительно слабее подвержена адаптивной эволюции богатая цистеином (Russell *et al.*, 1992) C-концевая область *Wg/WNT* (см. Приложение). Формирование цистеиновых мостиков между белками или внутри полипептидной цепи является одним из важных механизмов формирования третичной структуры белков и/или их полимеризации. Таким образом, адаптивная эволюция этого района белка *Wg/WNT* могла быть связана с изменением конформации и/или процесса укладки (фолдинга) белка в филогенезе. Однако эта гипотеза требует дополнительной проверки.

Таким образом, выяснилось, что ускоренной эволюции в белках *Nh*, *Dpp/BMP* и *Wg/WNT* действительно подвержены участки, в той или иной мере влияющие на динамику подвижности морфогена (сигнала).

3.2.2. Эволюция рецепторов и белков, ответственных за передачу сигналов через цитоплазму. Адаптивная эволюция гена *Ptc*, рецептора морфогена *Nh*, коррелирует только с возникновением позвоночных. *Ptc* – трансмембранный белок, содержащий 12 трансмембранных петель. Адаптивной эволюции подвергаются

N-концевая область стерол-чувствительного домена и N-концевая область, расположенная вне домена экспортерных белков. Предполагается, что стерол-чувствительный домен *Ptc* нужен для взаимодействия с белком *Smo* и/или связан с везикулярным транспортом белка *Ptc*, который необходим для подавления ингибиторного эффекта *Ptc* на белок *Smo* (Karpen *et al.*, 2001; Jia *et al.*, 2004). Морфоген *Nh* контактирует с двумя внеклеточными доменами белка *Ptc*, расположенными между трансмембранными петлями 1 и 2, а также между петлями 7 и 8 (рис. 7). Эти области также адаптивно эволюционируют. Данный факт может свидетельствовать об адаптивных преобразованиях связывания морфогенов семейства *Nh* с их рецепторами в процессе эволюции позвоночных. Отметим, что адаптивная эволюция рецептора морфогена *Nh* и самого морфогена коррелирует во времени (на эволюционном дереве).

Адаптивная эволюция генов *Smo* коррелирует с возникновением членистоногих и хордовых и с образованием наземных тетрапод (рис. 7). Причем в белке *Smo* адаптивной эволюции подвержены C-окончание домена рецепторов G-белков и домен, предположительно отвечающий за связывание с высокомолекулярным комплексом *Fu/Cos2/Ci*. В нашем исследовании была также отмечена значительная вариабельность N-конца белка *Smo* у позвоночных. У беспозвоночных (дрозофилы) этот конец (*Costal-2 binding domain* белка *Smo*) необходим для передачи сигнала, тогда как у позвоночных его делеция не приводит к существенным изменениям *Nh*-каскада (Alcedo *et al.*, 2000; Nakano *et al.*, 2004).

Адаптивная эволюция *Tkv* и *Put* – рецепторов морфогена *Dpp* (*BMP*), как выяснилось, также коррелирует с возникновением хордовых и беспозвоночных, иными словами, адаптивная эволюция рецепторов морфогена *Dpp* и самих морфогенов коррелирует во времени (на эволюционном дереве, рис. 8). В основном она приурочена к внеклеточному домену, связывающемуся с димерами *Dpp* (*BMP*), и захватывает трансмембранный домен у рецепторов *Put*, что закономерно, если учесть огромное разнообразие паралогичных групп морфогенов *Dpp*(*BMP*), а также их адаптивную эволюцию. C-концы обоих типов рецепторов морфогена

Дрр(ВМР) расположены внутри клетки и различным образом (каталитическая активность, связывание с белками-ингибиторами (I-smads, Dad) и активаторами (R-smad, SARA)) осуществляют модуляцию скорости передачи сигналов в Дрр-каскаде (Inoue *et al.*, 1998; Bennett, Alphey, 2002; Sutherland *et al.*, 2003; Moser, Campbell, 2005) (рис. 8). О важности этого процесса в филогенезе Metazoa свидетельствует выявленная нами адаптивная эволюция С-концов у обоих типов рецепторов.

Адаптивная эволюция рецепторов морфогена Wg/WNT также коррелирует с эволюцией самого морфогена и, таким образом, может быть приурочена к диверсификации хордовых и беспозвоночных в ходе «кембрийского взрыва» (рис. 9). В белках Fz и Fz2 ей в основном подвержены N- и С-концы внеклеточного домена, связывающе-

гося с морфогеном Wg/WNT, причем сам домен консервативен. N- и С-концевые участки белков Fz и Fz2 нужны также для связывания с белком LRP/Arrow, являющимся трансмембранным корецептором белков Fz и Fz2. Только в комплексе с LRP/Arrow рецепторы Fz и Fz2 способны передавать сигнал внутрь клетки (Schweizer, Varmus, 2003). По-видимому, именно взаимодействие с корецепторами, обуславливающее модуляцию Wg/WNT-каскада сигналов, подвергается адаптивной эволюции³. Примечательно, что область взаимодействия с β -катенином (ARM) (см. рис. 9) у рецептора Fz консервативна. Напротив,

³ Адаптивная эволюция белков Fz и Fz2 локализуется также во внеклеточных районах, расположенных между трансмембранными участками, особенно между 6-й и 7-й трансмембранными петлями. На сегодня не известны причины данного явления.

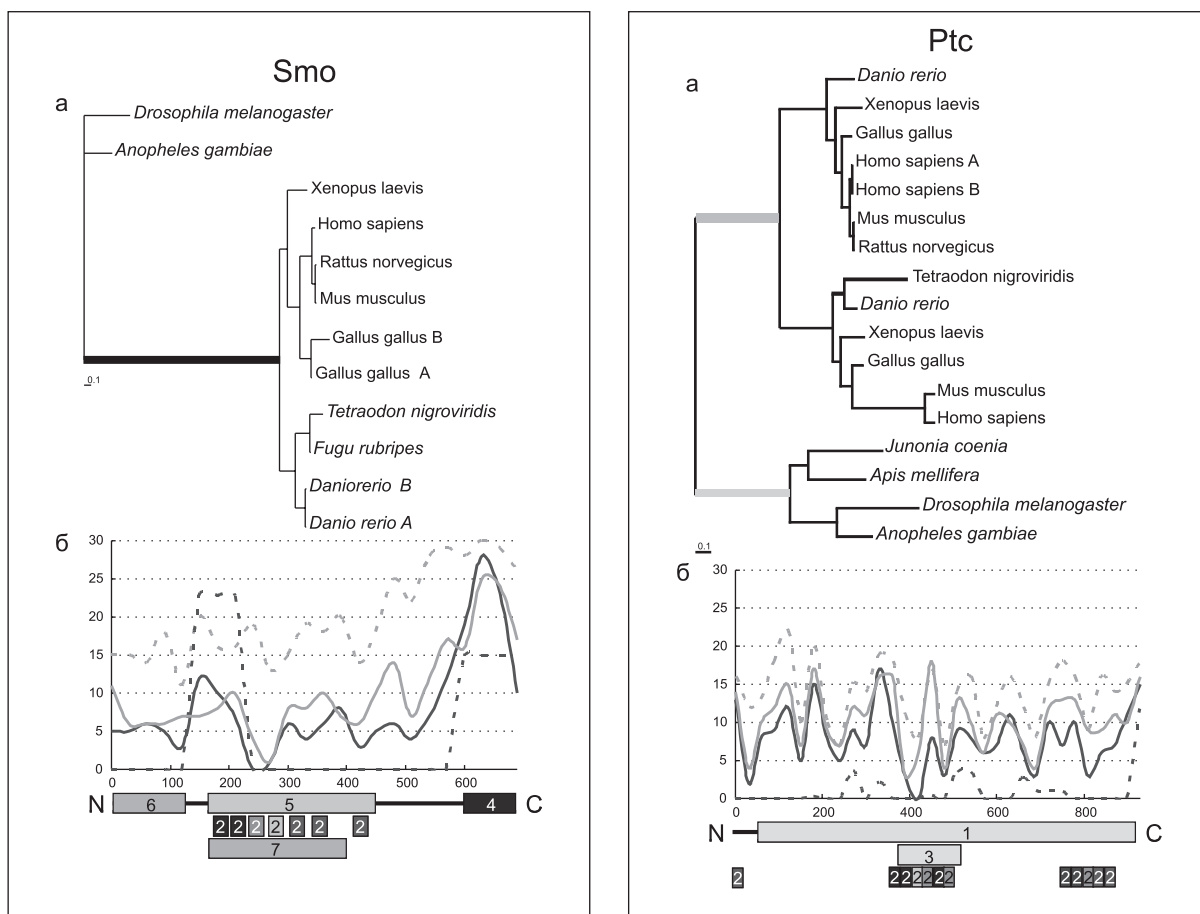


Рис. 7. Адаптивная эволюция генов *Smo* и *Ptc* – рецепторов морфогена Hh.

Привязка к филогенетическим деревьям (а) и к доменной структуре белков Ptc и Smo (б). Обозначения как на рис. 4. Домены белков даны под графиками: 1 – домен Patched; 2 – трансмембранный домен; 3 – стерол-чувствительный домен; 4 – домен, связывающийся с белком Cos-2; 5 – мембранный район белков семейства Frizzled/Smoothed; 6 – домен Frizzled domain; 7 – домен связывания с G-белками.

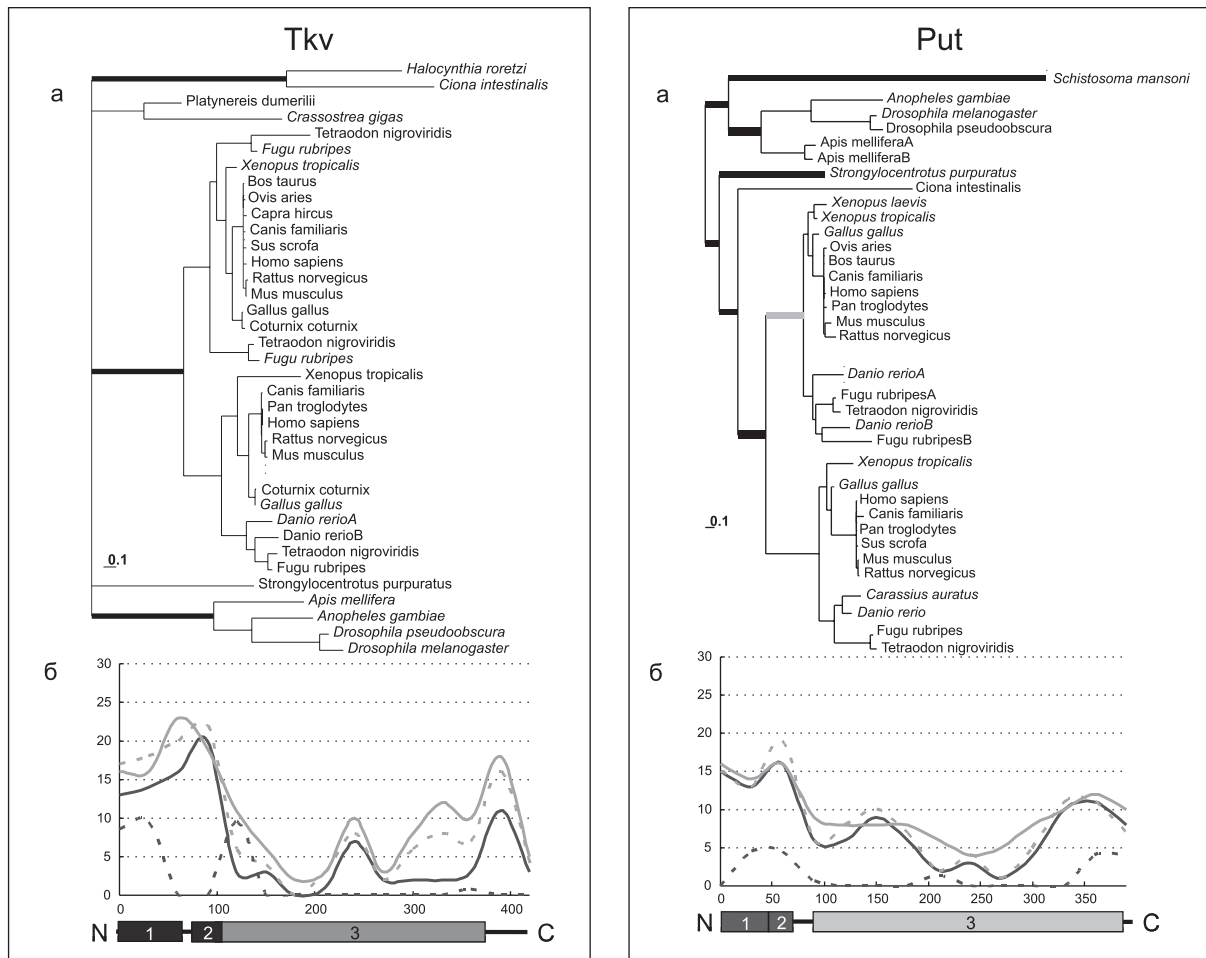


Рис. 8. Адаптивная эволюция генов *Tkv* и *Put* – рецепторов морфогена Dpp/BMP.

Привязка к филогенетическим деревьям (а) и к доменной структуре белков *Tkv* и *Put* (б). Обозначения как на рис. 4. Домены белков даны под графиками: 1 – рецепторный домен, связывающий морфоген; 2 – трансмембранный домен; 3 – каталитический домен серин-треонин киназ.

у Fz2 цитоплазматический С-конец, модулирующий Wg/WNT-каскад, подвержен сильной адаптивной эволюции.

В Nh-каскаде на скорость и специфичность ответа на морфоген может повлиять эволюция белков сложного аппарата цитоплазматической передачи сигнала. Нами была проанализирована эволюция транскрипционных факторов Ci/Gli и их кофакторов Nej/CBP (см. Приложение). Было четко показано, что адаптивная эволюция гена *Ci* коррелирует с возникновением крупных таксонов членистоногих и хордовых в кембрии и с образованием паралогичных групп гена *Gli* у хордовых.

Как у белка *Ci*, так и у его гомологов *Gli*, адаптивная эволюция высокодостоверно выявляется в доменах, ответственных за процесс

удержания белка в цитоплазме (только у насекомых) и за связывание с кофакторами транскрипции (у насекомых и хордовых) (рис. 10). Адаптивная эволюция гена *Nej* коррелирует лишь с возникновением беспозвоночных (см. Приложение). Кроме того, она снова выявляется при диверсификации двукрылых насекомых. Причем в белке *Nej* адаптивная эволюция достоверно идет в доменах, ответственных за связывание с белками-кофакторами транскрипции (Akimaru *et al.*, 1997) и за связывание с ДНК (Chen *et al.*, 2000).

Этот факт можно объяснить, если предположить, что адаптивная эволюция гена *Nej* обусловлена приспособительным характером, связанным с формированием молодых таксонов насекомых, с появлением особого, только им

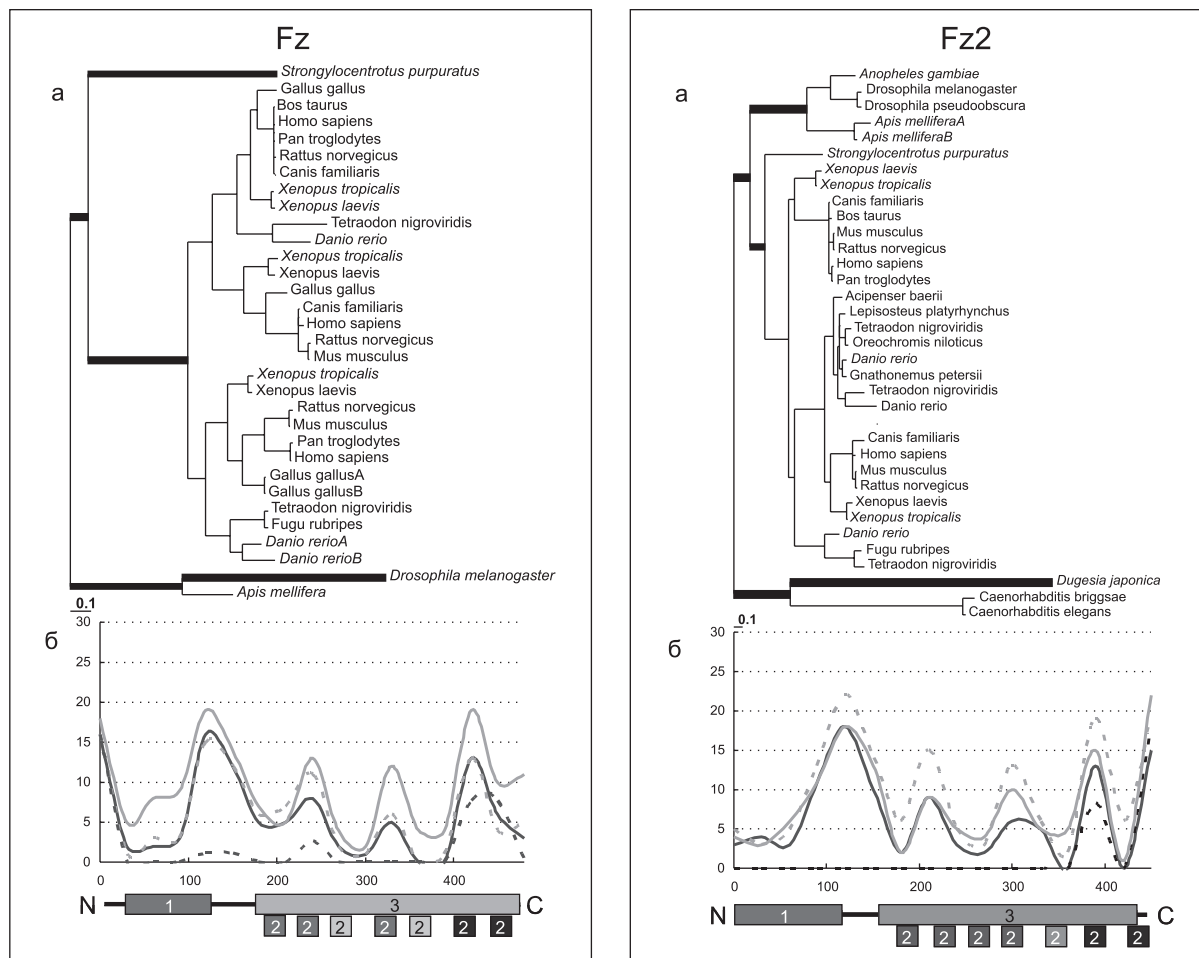


Рис. 9. Адаптивная эволюция генов *Fz* и *Fz2* – рецепторов морфогена Wg/WNT.

Привязка к филогенетическим деревьям (а) и к доменной структуре белков *Fz* и *Fz2* (б). Обозначения как на рис. 4. Домены белков даны под графиками: 1 – домен Frizzled, отвечающий за связывание морфогена; 2 – трансмембранный домен; 3 – мембранный район белков семейства Frizzled/Smoothed.

присущего, типа длиннозародышевого развития (Davis, Patel, 2002).

В аппарате цитоплазматической передачи сигнала Dpp/BMP каскада была проанализирована эволюция транскрипционных факторов *mad* (*smad1*) и кофактора *med* (*smad4*). Показано, что адаптивная эволюция генов *Mad* и *Med* также коррелирует с возникновением крупных таксонов членистоногих и хордовых. В белках *mad* и *med* адаптивная эволюция высокостойчиво связана с линкерным доменом, расположенным между консервативными доменами МН1 и МН2 (рис. 11). Линкер имеет высокую функциональную нагруженность – здесь расположены сайты фосфорилирования MAP-киназ; сайты фосфорилирования Ca^{2+} /кальмодулин-зависимых протеинкиназ II (CamKII) и проте-

инкиназ C (PKC); пролин-тирозин (PY) мотивы взаимодействия с E3 убиквитин-лигазами Smurf1 и Smurf2 (Smad ubiquitination-related factors) и SCF/Roc1. Линкер Smad4 также включает NE-сигнал (nuclear export signal) и домен SAD (Smad4 activation domain), необходимые в транскрипционном комплексе для передачи сигнала на Smad-зависимые каскады генов (Qin *et al.*, 1999; Watanabe *et al.*, 2000; Wicks *et al.*, 2000; Watanabe *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2005). Таким образом, линкерный район ответственен не только за изменение скорости передачи сигнала от морфогена через цитоплазму, но через протеинкиназы и за интеграцию данного каскада передачи сигналов с другими путями передачи сигналов и, вероятно, за модификацию специфичности сигнала.

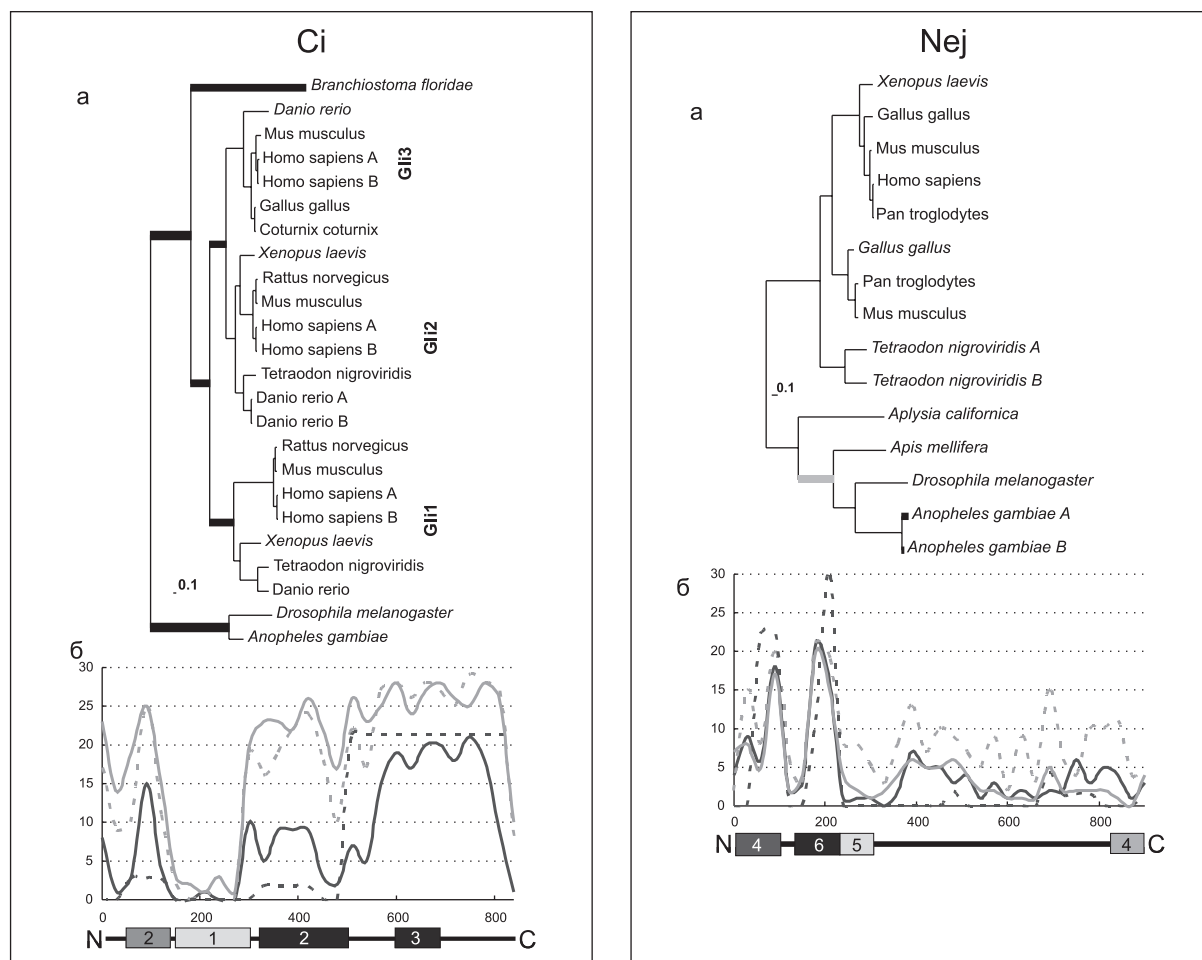


Рис. 10. Адаптивная эволюция генов *Ci* и *Nej* – компонентов цитоплазматической передачи сигнала от рецепторов морфогена Нн.

Привязка к филогенетическим деревьям (а) и к доменной структуре белков *Ci* и *Nej* (б). Обозначения как на рис. 4. Домены белков даны под графиками: 1 – C2H2-домен цинковых пальцев; 2 – домен заякоривания в цитоплазме (домен связывания с белками Cos2, Su(Fu), Fu); 3 – домен связывания кофакторов транскрипции; 4 – TAZ-домен цинковых пальцев; 5 – бромодомен; 6 – домен связывания кофакторов транскрипции (KIX-домен).

3.3. Эволюция генов домашнего хозяйства, функционирующих в генных сетях сигнальных каскадов

Если для белков сигнальных каскадов, непосредственно отвечающих за морфогенез, события адаптивной эволюции довольно часты и/или хорошо коррелируют с ароморфозами, выявленными палеонтологами, то для компонентов биохимического аппарата клетки, рекрутированных в генные сети сигнальных каскадов из различных генных сетей домашнего хозяйства, ситуация совсем иная. К генам домашнего хозяйства относятся гомологи белка Slimb (необходимы для огромного количества процессов, связанных с убиквитинизацией белков

клетки (Cardozo, Pagano, 2004; Nakayama K.I., Nakayama K., 2005)) и транскрипционные факторы Exd (важный компонент молекулярной машины, освобождающей хроматин от репрессированного состояния (Sagerstrom, 2004)). Событий адаптивной эволюции этих белков не обнаружено, не выявлено и ни одного адаптивно эволюционирующего района этих белков (см. Приложение).

Ген протеинкиназы A (PKA) (Smith *et al.*, 1997) рекрутирован в Нн-каскад из генной сети молекулярно-генетического аппарата общего метаболизма клетки эвкариот. Для PKA в участках, фланкирующих ее каталитический домен, адаптивная эволюция выявляется, но она не коррелирует с возникновением крупных так-

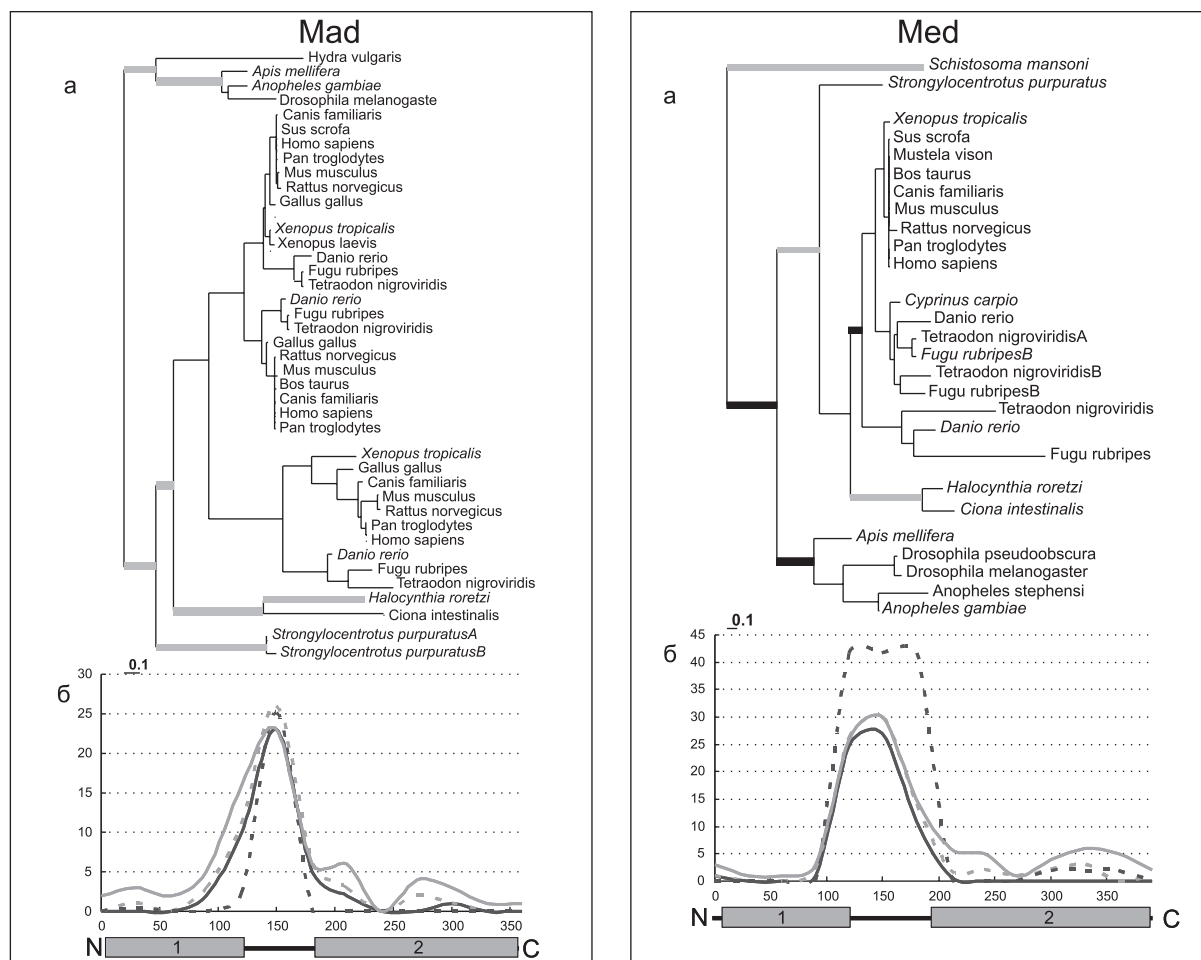


Рис. 11. Адаптивная эволюция генов *Mad* и *Med* – компонентов цитоплазматической передачи сигнала от рецепторов морфогена Dpp/BMP.

Привязка к филогенетическим деревьям (а) и к доменной структуре белков *Mad* и *Med* (б). Обозначения как на рис. 4. Домены белков даны под графиками: 1 – МН1-домен (связывания с ДНК); 2 – МН2-домен (домен, отвечающий за взаимодействие с белками-рецепторами, транскриптацию, гомо- и гетеродимеризацию); 3 – пролин-богатый район.

сонов билатерий на филогенетическом дереве. По-видимому, адаптивная эволюция РКА связана с образованием новых белковых семейств, проходившим на заре возникновения эукариот задолго до возникновения многоклеточных (см. Приложение).

Таким образом, можно сделать следующие выводы: 1) адаптивная эволюция транскрипционных факторов, морфогенов и их рецепторов, связанных с онтогенезом, коррелирует на филогенетическом дереве с крупными ароморфозами (появление крупных таксонов билатерий, выход позвоночных на сушу); 2) адаптивная эволюция ферментов, неспецифических для процессов развития, напротив, на филогенетическом дереве не связана с ароморфозами, так как протекает задол-

го до формирования многоклеточных животных; 3) адаптивная эволюция часто сопровождается образованием паралогов в одном или нескольких филумах; 4) для паралогов часто характерна эстафетная адаптивная эволюция, когда один из паралогов интенсивно эволюционирует, а другие нет; 5) адаптивная эволюция, как правило, влияет на области белка, связанные с установлением скорости и дальности ответа на морфоген (сигнал), либо определяющие специфичность действия сигнала в разных типах клеток и тканей, либо, наконец, на области, способные повлиять на степень интеграции в онтогенезе данной генной сети с другими генными сетями, в частности, 6) адаптивная эволюция сигнальной молекулы часто коррелирует с эволюцией ее рецептора.

4. Обсуждение

4.1. Ароморфоз и адаптивная молекулярная эволюция генов

Неравномерная скорость эволюции и различный масштаб эволюционных преобразований заставили постулировать элементарный эволюционный цикл (Северцов, 1949; Шмальгаузен, 1968; Eldredge, Gould, 1972; Раутиан, 1988): ароморфоз (аллогенез) → кладогенез → анагенез → стасигенез. В ходе ароморфоза резко снижается (типолоиз) жесткость коррелятивных связей, формирующих архетип в ходе онтогенеза организма, что позволяет перестроить онтогенез, сформировать новые архетипы (кладогенез) и освоить целый спектр вакантных экологических ниш за счет последующей специализации полифункциональных систем⁴. Перестроенные коррелятивные связи стабилизируются по мере специализации вновь образованных таксонов (кладогенез сменяется анагенезом). Жесткость связей растет, а масштаб эволюционных преобразований снижается (хотя их темпы могут возрасти – прогрессивная специализация). Наконец, когда онтогенезы теряют гибкость вследствие специализации, наступает стазис.

В настоящее время накоплено множество фактов, свидетельствующих о связи между диверсификацией таксонов и адаптивной эволюцией определенных генов. Так, у 25 видов моллюска морское ушко (*Haliotis*) гены белка спермлизина, отвечающего за видоспецифичность акросомной реакции при оплодотворении, эволюционируют адаптивно (Yang *et al.*, 2000). Аналогичный пример из эволюции человекообразных обезьян – адаптивная эволюция генов протаминового кластера (Wyckoff *et al.*, 2000). В этих и многих других случаях биологический смысл – создание репродуктивного барьера (Swanson, Vacquier, 2002), т. е. явный анагенез – диверсификация видов за счет адаптивной эволюции какой-то одной узкоспециализированной

системы (например, биохимических компонентов машины оплодотворения).

Значительно ближе к ароморфозу адаптивная эволюция такой полифункциональной системы, как митохондриальные гены клеточного энергетического обмена приматов, выявленная с помощью коварионного подхода. У приматов мономорфны 3 аминокислоты белка, кодируемого геном *nd5*, высоковариабельные у других млекопитающих (Purko, Galtier, 2002). Наоборот, белки, кодируемые генами *ftp6*, *co3* и *nd2*, мономорфны у всех млекопитающих, кроме приматов. Такое отличие приматов от всех млекопитающих авторы (Purko, Galtier, 2002) связывают с ранним трендом роста мозга в их эволюции. Высокоэнергетический мозг рано «оптимизировал» энергообмен, а с ним и эволюцию митохондриальных генов у приматов под свои потребности. У других млекопитающих эволюция митохондрий оптимизировалась, по-видимому, под потребности «посткраниального» метаболизма.

Добывание пищи также связано с эволюцией множества полифункциональных генных сетей (Уголев, 1985). Кроме генных сетей пищеварения, это, в частности, генные сети формирования пищевой мотивации (лептин), иммунного ответа на поглощаемые с пищей патогены (лизоцимы). Параллельная адаптивная эволюция лептинов (Siltberg, Liberles, 2002; Benner *et al.*, 2002) и лизоцимов (Messier, Stewart, 1997; Yang, 1998) у узконосых обезьян наиболее ярко выражена в филумах, ставших на путь освоения новых пищевых стратегий: колобусы (питание низкокалорийной листвой в кронах)⁵ и гоминиды (пригибатели веток – полуназемные гориллы и орангутаны⁶ (Мак-Киннон, 1985; Фосси, 1990) и потребители высококалорийной пищи: фруктов и (факультативно) мяса – шимпанзе (Boesch C., Boesch H., 1989; Stanford, 1998) и человек (Фоули, 1990; Бутовская, 1998)). Для человекообразных эта эволюция на филогенетическом

⁴ Например, образование скелета в кембрии или челюстей у хордовых в силуре не было узкой адаптацией к какой-то конкретной экологической нише, но позволяло освоить сразу множество ниш (Кэрролл, 1992а, б). Хорошо изученным примером молекулярно-биологической адаптации широкого профиля служит эволюция гемоглобинов (Ратнер и др., 1985), позволившая освоить такие различные бедные кислородом биотопы, как суша (артроподы), или внутренние полости организма (личинки двукрылых).

⁵ Лизоцим является ключевым ферментом, расщепляющим стенки бактериальных клеток. У колобусов структура его белка приобрела конвергентное сходство с таковой у листоядных копытных (Messier, Stewart, 1997; Yang, 1998).

⁶ Древесный образ жизни орангутанов, сохранившихся лишь на островах Зондского архипелага, вторичен. Крупные особи вынуждены переходить к полуназемному образу жизни (Мак-Киннон, 1985). Ископаемые находки на материке также свидетельствуют о тренде наземной адаптации (Трофимов, Машенко, 1999).

дереве коррелирует с эволюцией эмали зубов и с параллельным ростом размеров тела, снижающим возможности гоминид и понгид как древолазов-брахиаторов, но адаптивным для хищников и фитофагов (Фоули, 1990; Трофимов, Машенко, 1999). Перестройка аппетита и рациона в свою очередь должна менять эволюционный вектор для целого спектра систем – от липидного метаболизма (Mantzoros, Moschos, 1998; Mantzoros, 1999; Barsh *et al.*, 2000) до репродуктивного (Lagiou *et al.*, 1999) и социального (Mitani, Watts, 1999) поведения, эволюция которых могла сыграть существенную роль в гоминизации антропоидов (Фоули, 1990; Бутовская, 1998). В то же время, по данным палеонтологии, линии гоминид-фитофагов и саркофагов долгое время незначительно отличаются по размерам и скорости роста головного мозга (Оппенгеймер, 2004). В настоящее время идет поиск генов (Saceres *et al.*, 2003), эволюция которых могла бы влиять на резкий рост размеров мозга в линии, ведущей к *Homo sapiens*. Адаптивная эволюция выявлена в генах, связанных как с развитием самого мозга (микроцефалин (Wang, Su, 2004), ASPM (Zhang, 2003)), так и с эволюцией обслуживающих мозг структур (например, толчок к увеличению размеров мозга могла дать мутация гена MYH16, нарушающая развитие челюстных мышц, что потребовало компенсаторных изменений черепа (Stedman *et al.*, 2004)).

Если корреляцию эволюции генов и функции найти не удастся, единственным критерием ароморфоза остается комбинаторика блоков генных сетей в онтогенезе, связанная с той или иной мутацией. Так, экспрессия Нох-гена *Ultrabithorax (Ubx)* в сегменте у онихофор (группы, чья морфология близка к предполагаемой предковой для типа Arthropoda) активирует развитие конечностей: у насекомых – подавляет, у ракообразных – модулирует⁷ (Galant, Carroll, 2002; Ronshaugen *et al.*, 2002). Модулирующая активность белка Ubx зависит от фосфорилирования С-концевого ST-домена. У насекомых в ходе эволюции он утерян и заменен на консервативный QA-домен, усиливающий репрессию развития конечностей. Можно сделать вывод,

что в ходе дивергенции артропод в линии насекомых эволюция регуляторных доменов белка Ubx, тотально подавляющих развитие конечностей, застabilизировала план строения насекомых (Ronshaugen *et al.*, 2002). У предков ракообразных преимущественное развитие получили домены, модулирующие активность белка Ubx (Ronshaugen *et al.*, 2002). В результате дышащие жабрами (производными базальных сегментов ног) ракообразные получили возможность гибко менять в ходе эволюции соотношение различных типов конечностей.

Сравнение генных сетей развития филогенетически далеких организмов показывает и другой тип комбинаторики: гомологичные функциональные блоки, возникшие, по-видимому, на заре эволюции, могут выполнять сходные задачи в совершенно разных органах. Изученные нами гены Нh-каскада, взаимодействуя с различными компонентами Dpp/BMP и Wg/WNT каскадов, участвуют в онтогенезе таких различных структур, как имагинальные диски крыла, конечностей и глаз, кишечник и гонады у насекомых, а у позвоночных определяют дорзовентральную полярность центральной нервной системы и передне-заднюю – конечностей, задают очередность сомитов, рост костной и хрящевой тканей, а также зубов, участвуют в формировании кишечника, глаз, гонад, стимулируют рост кровеносных сосудов, дифференциацию эритроцитов и тимоцитов (Nybakken, Perrimon, 2002; Шаталкин, 2003) (при этом характер взаимодействия с компонентами BMP и WNT каскадов отличается от такового у насекомых).

В этом перечне особо нужно отметить связь Нh, Dpp/BMP и Wg/WNT – каскадов с детерминацией основных осей организма и с развитием метамерных органов (например, сомиты, гонады, кости, зубы). Формирование нового органа как в онтогенезе, так и в филогенезе начинается с определения его осей относительно друг друга и относительно всего организма. Другим важным моментом является определение количества и взаиморасположения метамерных структур в органе. Изменение архитектоники осей и метамерного статуса лежит в основе таких общих для онтогенеза и филогенеза механизмов формирования инноваций, как изменение параметров роста ткани и

⁷ В эксперименте Ubx рачка артемии репрессировал развитие брюшных конечностей в эмбрионах дрозофилы с 15 %-й эффективностью по сравнению с Ubx дрозофилы при одинаковых уровнях экспрессии (Galant, Carroll, 2002; Ronshaugen *et al.*, 2002).

взаиморасположения эмбриональных структур, полимеризация и олигомеризация (Северцов, 1949; Шмальгаузен, 1968; Рэфф, Кофмен, 1986; Иорданский, 1986, 2004; Шаталкин, 2003). В линии хордовых адаптивная эволюция Nn-каскада, сопровождавшаяся образованием паралогов, затронула линию тетрапод, а не лучеперых, т. е. именно ту линию, филогенез которой отмечен резкими изменениями в ориентации осей тела и его придатков (конечностей) и в числе и расположении метамерных структур⁸ – сомитов, костей, зубов и т. д.

Палеонтологические данные свидетельствуют о том, что хотя выход на сушу в различных линиях кистеперых проходил, скорее всего, независимо, сходные условия формировали сходные тренды эволюции. Последние находки позволяют хорошо документировать перестройку метамерии дистального района конечностей (мелкие костные элементы сливаются, обеспечивая опору пальцам, число которых сокращается от 9 до 5). Важнейшим моментом было изменение взаиморасположения осей тела и конечности: вместо характерного для рыб прижатого, параллельного туловищу положения плавников формируется растопыренное положение, а пальцы, вместо того чтобы продолжать ось плавника, образуют веер перпендикулярных ей осей, позволяющих сформировать опорную поверхность. Этот процесс идет неравномерно⁹ (Клек, 2006; Daeschler *et al.*, 2006). Важный момент, выявленный палеонтологами, – перестройка зубного аппарата и кинетизма черепа во всех линиях примитивных амфибий, осваивавших в девоне сушу (Воробьева, 2005; Клек, 2006). Изменение питания, о чем свидетельствует изменение хватательного аппарата, параллельное изменению архетипа, однозначно говорит о выходе в новую экологическую нишу. Таким образом, перед нами действительно ароморфоз, а

не локальное приспособление, которое имеется, например, у современных илистых прыгунов (Periophthalmidae). Следует также отметить, что у ближайших родственников кистеперых, не испытавших ароморфоза двоякодышащих рыб глубокие физиологические адаптации к сухопутному образу жизни не сопровождались существенным изменением архетипа (развитие конечностей), а эволюция хватательного аппарата (и соответственно, рациона) быстро (еще в девоне) впала в стазис (Воробьева, 2005).

Приняв гипотезу о связи изменения архитектоники организмов с адаптивной эволюцией компонентов Nn, Dpp/BMP и Wg/WNT каскадов, можно предположить и механизм всплеска морфологической эволюции в кембрии. Существенное изменение архитектоники возможно лишь при морфодинамическом типе эмбриогенеза, когда генные сети, запускающие морфогенез, и генные сети собственно морфогенеза действуют одновременно, плавно изменяя динамику друг друга в ходе развития (Salazar-Ciudad *et al.*, 2003). Именно такой эмбриогенез (см. рис. 1) с параллельно работающими и частично перекрывающимися блоками характерен для билатерий, выступивших на арену жизни в кембрии. Напротив, эмбриогенез губок и кишечнopolостных относится к морфостатическому типу, когда генные сети индукции морфогенеза и собственно морфогенез разобщены (Erwin, Davidson, 2002; Salazar-Ciudad *et al.*, 2003) и их взаимная коррекция (например, изменение паттернов морфогенов из-за изменения параметров роста ткани) невозможна. Появление морфодинамического типа развития должно было увеличить разнообразие морфотипов, так как изменение функции генов морфогенеза могло непосредственно проявляться в изменении морфологии и тестироваться отбором.

4.2. Адаптивная эволюция или адаптивная оптимизация?

Характерный момент, сопровождающий адаптивную эволюцию исследованных нами генов, – образование паралогов и их эстафетная эволюция (один из паралогов интенсивно эволюционирует, а другие нет). Критерий Kn/Ks связывает адаптивную эволюцию с превышением вероятности фиксации ненейтральных замен

⁸ Аналогичные соображения могут быть высказаны относительно адаптивной эволюции компонентов Nn-каскада членистоногих, особенно насекомых, у которых изменения взаиморасположения осей потребовали не только конечности, но и крылья (Belayeva *et al.*, 2002; Шаталкин, 2003).

⁹ В дальнейшем параллельно в группах диапсид и синапсид адаптивная тенденция изменения взаиморасположения осей конечностей и тела будет прогрессивно развиваться – конечности будут отведены под тело независимо у архозавров (и их нынеживущих потомков – крокодилов и птиц) и зверозубых рептилий (и их нынеживущих потомков – млекопитающих) (Кэрролл, 1992б, 1993).

над нейтральными, причем нейтральными в данном случае считаются лишь синонимичные замены (Кимура, 1985; Li *et al.*, 1985). Между тем известны механизмы, снижающие селективное значение несинонимичных мутаций, – в этом случае они будут фиксироваться в режиме, близком к нейтральному. Одним из таких механизмов как раз и будет дупликация: так как оба паралога выполняют одну и ту же функцию, мутации в одном из них пройдут для отбора незамеченными (Lynch, Force, 2000; Родин и др., 2005). Например, гены AP1, CAL и FUL арабидопсиса имеют сильную гомологию друг с другом, что говорит об их происхождении путем дупликаций. Мутация в любом из них не влияет на цветение, двойные мутации снижают фертильность, и лишь мутации во всех трех паралогах делают растение стерильным (Weigel *et al.*, 1992; Bowman *et al.*, 1993; Ferrandiz *et al.*, 2000).

Так как мутации в одной из копий дублирующих друг друга паралогов не тестируются отбором, результатом с довольно высокой вероятностью будет не приобретение новой функции (неофункционализация), а вырождение: паралог станет псевдогеном. Предотвратить это может лишь функциональная нагрузка обеих копий, например, возможно разнесение их экспрессии во времени (экспрессия на разных стадиях развития) и в пространстве (экспрессия в разных органах и тканях)¹⁰ (Родин и др., 2005; Liu *et al.*, 2005; Klüver *et al.*, 2005). Смена тканеспецифичности в сочетании с мультимеризацией белковых продуктов хорошо изучена, например, для паралогов Dpp/BMP (см. выше).

Таким образом, если ускоренная эволюция генов по критерию K_n/K_s сопровождается образованием паралогов, которые длительное время (десятки миллионов лет) сохраняются в геноме филума, это говорит о функциональной нагрузке гена, дополнительно свидетельствуя в пользу адаптивного характера эволюции (несинонимичные замены фиксируются под давлением отбора, а не из-за отсутствия такового). Именно это и было показано в нашем исследовании.

¹⁰ У многоклеточных с их обилием тканей и большими размерами гораздо больше шансов разнести экспрессию паралогов во времени и пространстве: лишь 8 % генов у дрожжей остаются дублированными, остальные 92 % возвращаются к состоянию одной копии, а у позвоночных в среднем остаются дублированными 50 % генов (Prince, Pickett, 2002).

Другой механизм выживания паралогов, не связанный с разнесением экспрессии во времени и пространстве, – субфункционализация, когда оба паралога фиксируют мутации, повреждающие комплементарные функции. В результате оба паралога становятся необходимыми для выполнения функции, которую ранее выполнял единственный предковый ген (модель DDC – duplication, degradation, complementation) (Lynch, Force, 2000). Паралоги, подвергшиеся субфункционализации, избавлены от быстрого превращения в псевдоген и элиминации, а с удлинением «времени жизни» растет вероятность случайной мутации, обеспечивающей новую функцию. В итоге субфункционализация облегчает неофункционализацию (Torgerson, Singh, 2004; He, Zhang, 2005).

Другой возможный механизм, снижающий селективное значение несинонимичных мутаций, – образование контура с отрицательной обратной связью (ООС). В таком контуре мутация, отклоняющая концентрацию белка от нормы, компенсируется за счет изменения скорости биосинтеза белка – фенотипический эффект мутаций «обнейтрализуется». Теоретически показано: стабилизирующий отбор благоприятствует в популяции таксонам с ООС, преимущественно фиксируя ООС высокого уровня иерархии. При этом на нижних уровнях иерархии накапливаются мутации, эволюционирующие в нейтральном режиме. Напротив, слом в ходе эволюции ООС или формирование положительной обратной связи способствуют проявлению всех ранее обнейтраленных мутаций (гиперманифестация изменчивости) (Колчанов, Шиндялов, 1991; Колчанов и др., 2003). Эволюция генов, включенных в регуляторный контур, должна идти скачками: сначала в течение длительного периода идет накопление мутаций, затем в течение короткого периода гиперманифестации отбор сразу тестирует всю совокупность накопленных мутаций. Таким образом, в отличие от классической схемы движущего адаптивного отбора, когда мутации тестируются сразу после их появления, в момент слома контура ООС мутации будут тестироваться «оптом», случайно подобранными ансамблями – отбор вынужден оптимизировать такие ансамбли. Такой режим отбора мы предлагаем назвать «адаптивной оптимизацией».

Адаптивная оптимизация может быть ответственной за сложные комплексные перестройки генов сетей. Например, перестройки генов сетей, ответственных за самые ранние этапы эмбриогенеза, могли долгое время идти под защитой контуров обратных связей в режимах, близких к нейтральному, и лишь затем, при сломе этих контуров, отдельные комбинации могли быть зафиксированы отбором (Гунбин и др., 2004а, б; Суслов и др., 2006).

С материалами **Приложения** можно ознакомиться на сайте журнала «ВОГиС».

Благодарности

Выражаем благодарность за обсуждение использованных методик и полученных результатов к.б.н. Д.А. Афонникову, к.б.н. А.Г. Блинову и д.б.н. Л.В. Омельянчуку.

Работа поддержана грантами: РФФИ 05-04-49283, № 10104-34/П-18/155-270/1105-06-001/28/2006-1, 05-07-98012-р_об, 03-04-48506-а, госконтрактом № 02.467.11.1005 федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники», междисциплинарным интеграционным проектом фундаментальных исследований СО РАН «Генные сети: теоретический анализ, компьютерное моделирование и экспериментальное конструирование» № 119, проектом «Компьютерное моделирование и экспериментальное конструирование генов сетей» программы Президиума РАН по молекулярной и клеточной биологии (10.4) и проектом «Происхождение и эволюция биосферы» программы Президиума РАН.

Литература

Бутовская М.Л. Эволюция человека и его социальной структуры // Природа. 1998. № 9. С. 87–99.
Воробьева Э.И. Филогенетические принципы и критерии на модели Sarcophagidae // Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М.: КМК, 2005. С. 44–59.
Гунбин К.В., Суслов В.В., Колчанов Н.А. и др. Генетические механизмы морфологической эволюции. Ч. 1 // Сиб. экол. журнал. 2004а. Т. 11. № 5. С. 599–610.

Гунбин К.В., Суслов В.В., Колчанов Н.А. и др. Генетические механизмы морфологической эволюции. Ч. 2 // Сиб. экол. журнал. 2004б. Т. 11. № 5. С. 611–621.
Кимура М. Молекулярная эволюция: теория нейтральности. М.: Мир, 1985. 498 с.
Клек Д. Трудный путь на сушу // В мире науки. 2006. № 3. С. 52–59.
Колчанов Н.А., Суслов В.В., Шумный В.К. Молекулярная эволюция генетических систем // Палеонтологический журнал. 2003. № 6. С. 58–71.
Колчанов Н.А., Шиндялов И.Н. Теоретическое исследование эволюции регуляторных контуров при различных типах отбора // Проблемы генетики и теории эволюции. Новосибирск: Наука, 1991. С. 268–279.
Красилов В.А. Нерешенные проблемы теории эволюции. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1986. 138 с.
Кэрролл Р. Палеонтология и эволюция позвоночных. Т. 1. М.: Мир, 1992а. 280 с.
Кэрролл Р. Палеонтология и эволюция позвоночных. Т. 2. М.: Мир, 1992б. 280 с.
Кэрролл Р. Палеонтология и эволюция позвоночных. Т. 3. М.: Мир, 1993. 312 с.
Мак-Киннон Дж. По следам рыжей обезьяны. М.: Мысль, 1985. 192 с.
Марков А.В. Новый подход к моделированию динамики разнообразия фанерозойской морской биоты // Журн. общ. биологии. 2001. Т. 62. № 6. С. 460–471.
Несис К.Н. Для чего у рыб возникли челюсти? // Природа. 1998. № 1. С. 92–94.
Оппенгеймер С. Изгнание из Эдема. Хроники демографического взрыва. М.: Эксмо, 2004. 640 с.
Пономаренко А.Г. Данные палеонтологии о происхождении членистоногих // Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М.: КМК, 2005. С. 146–155.
Ратнер В.А. Генетика. Молекулярная кибернетика. Личности и проблемы. Новосибирск: Наука, 2002. С. 104–121.
Ратнер В.А., Жарких А.А., Колчанов Н.А. и др. Проблемы теории молекулярной эволюции. Новосибирск: Наука, 1985. 260 с.
Раутиан А.С. Палеонтология как источник сведений о закономерностях и факторах эволюции // Современная палеонтология. Методы, направления, проблемы, практическое приложение. Т. 2. М.: Недра, 1988. С. 76–118.
Родин С.Н., Пахомчук Д.В., Риггс А.Д. Эпигенетические изменения и репозиционирование определяют эволюционную судьбу дуплицированных генов // Биохимия. 2005. Т. 70. № 5. С. 680–689.
Рожнов С.В. Морфологические закономерности становления и эволюции высших таксонов игло-

- кожих // Эволюционные факторы формирования разнообразия животного мира. М.: КМК, 2005. С. 156–170.
- Рэфф Р., Кофмен Т. Эмбрионы, гены и эволюция. М.: Мир, 1986. 404 с.
- Северцов А.Н. Собрание сочинений. Т. 5. Морфологические закономерности эволюции. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1949. 536 с.
- Симпсон Дж.Г. Темпы и формы эволюции. М.: Изд-во иностр. лит-ры, 1948. 369 с.
- Соколов Б.С., Федонкин М.А. Ранние этапы развития жизни на земле // Современная палеонтология. Т. 2. М.: Недра, 1988. С. 18–141.
- Суслов В.В., Колчанов Н.А., Сергеев М.Г. Молекулярно-генетические механизмы процессов формирования биоразнообразия // Коллективная монография «Биоразнообразие и динамика экосистем: информационные технологии и моделирование» / Под ред. В.К. Шумного, Ю.И. Шокина, Н.А. Колчанова. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2006. С. 95–116.
- Трофимов Б.А., Машенко Е.Н. Самые большие человекообразные обезьяны – гигантопитеки // Природа. 1999. № 12. С. 38–48.
- Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Элементы современного функционализма. Л.: Наука, 1985. 544 с.
- Фосси Д. Гориллы в тумане. М.: Прогресс, 1990. 288 с.
- Фоули Р. Еще один неповторимый вид. М.: Мир, 1990. 368 с.
- Шаталкин А.И. Регуляторные гены в развитии и проблема морфотипа в систематике насекомых. Спб.: Русское энтомологическое общество, 2003. 109 с.
- Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции (теория стабилизирующего отбора). М.: Наука, 1968. 452 с.
- Abascal F., Zardoya R., Posada D. ProtTest: selection of best-fit models of protein evolution // Bioinformatics. 2005. V. 21. № 9. P. 2104–2105.
- Ahlberg P.E., Clack J.A. A firm step from water to land // Nature. 2006. № 7085. P. 747–749.
- Akimaru H., Chen Y., Dai P. *et al.* Drosophila CBP is a co-activator of *cubitus interruptus* in hedgehog signaling // Nature. 1997. V. 386. № 6626. P. 735–738.
- Akiyama T. Wnt/beta-catenin signaling // Cytokine Growth Factor Rev. 2000. V. 11. № 4. P. 273–282.
- Alcedo J., Zou Y., Noll M. Posttranscriptional regulation of smoothened is part of a self-correcting mechanism in the Hedgehog signaling system // Mol. Cell. 2000. V. 6. № 2. P. 457–465.
- Altschul S.F., Madden T.L., Schaffer A.A. *et al.* Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25. № 17. P. 3389–3402.
- Ananko E.A., Podkolodny N.L., Stepanenko I.L. *et al.* GeneNet: a database on structure and functional organisation of gene networks // Nucl. Acids Res. 2002. V. 30. № 1. P. 398–401.
- Ashe H.L., Mannervik M., Levine M. Dpp signaling thresholds in the dorsal ectoderm of the Drosophila embryo // Development. 2000. V. 127. № 15. P. 3305–3312.
- Aza-Blanc P., Lin H.Y., Ruiz i Altaba A. *et al.* Expression of the vertebrate Gli proteins in Drosophila reveals a distribution of activator and repressor activities // Development. 2000. V. 127. № 19. P. 4293–4301.
- Barsh G.S., Farooqi I.S., O’Rahilly S. Genetics of body-weight regulation // Nature. 2000. V. 404. № 6778. P. 644–651.
- Belayeva N.V., Blagoderov V.A., Dmitriev V.Yu. *et al.* History of Insects. Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 2002. 517 p.
- Benner S.A., Caraco M.D., Thomson J.M. *et al.* Planetary biology – paleontological, geological, and molecular histories of life // Science. 2002. V. 296. № 5569. P. 864–868.
- Bennett D., Alphey L. PP1 binds Sara and negatively regulates Dpp signaling in *Drosophila melanogaster* // Nat. Genet. 2002. V. 31. № 4. P. 419–423.
- Boesch C., Boesch H. Hunting behavior of wild chimpanzees in the Tai National Park // Am. J. Phys. Anthropol. 1989. V. 78. № 4. P. 547–573.
- Bowman J., Alvarez J., Weigel D. *et al.* Control of flower development in *Arabidopsis thaliana* by APETALA1 and interacting genes // Development. 1993. V. 119. № 3. P. 721–743.
- Bradley P.L., Haberman A.S., Andrew D.J. Organ formation in Drosophila: specification and morphogenesis of the salivary gland // Bioessays. 2001. V. 23. № 10. P. 901–911.
- Caceres M., Lachuer J., Zapala M.A. *et al.* Elevated gene expression levels distinguish human from non-human primate brains // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2003. V. 100. № 22. P. 13030–13035.
- Cardozo T., Pagano M. The SCF ubiquitin ligase: insights into a molecular machine // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2004. V. 5. № 9. P. 739–751.
- Chen Y., Goodman R.H., Smolik S.M. Cubitus interruptus requires Drosophila CREB-binding protein to activate wingless expression in the Drosophila embryo // Mol. Cell. Biol. 2000. V. 20. № 5. P. 1616–1625.
- Chen D., Zhao M., Harris S.E. *et al.* Signal transduction and biological functions of bone morphogenetic proteins // Front Biosci. 2004a. V. 9. P. 349–358.
- Chen D., Zhao M., Mundy G.R. Bone morphogenetic proteins // Growth Factors. 2004b. V. 22. № 4. P. 233–241.
- Cohen M.M. Jr. The hedgehog signaling network // Am. J. Med. Genet. A. 2003. V. 123. № 1. P. 5–28.

- Comeron J.M. K-Estimator: calculation of the number of nucleotide substitutions per site and the confidence intervals // *Bioinformatics*. 1999. V. 15. № 9. P. 763–764.
- Currie P.D., Ingham P.W. Induction of a specific muscle cell type by a hedgehog-like protein in zebrafish // *Nature*. 1996. V. 382. № 6590. P. 452–455.
- Daeschler E.D., Shubin N.H., Jenkins F.A. Jr. A Devonian tetrapod-like fish and the evolution of the tetrapod body plan // *Nature*. 2006. V. 440. P. 757–763.
- Davis G.K., Patel N.H. Short, long, and beyond: molecular and embryological approaches to insect segmentation // *Annu. Rev. Entomol.* 2002. V. 47. P. 669–699.
- de Souza F.S., Bumashny V.F., Low M.J. *et al.* Subfunctionalization of expression and peptide domains following the ancient duplication of the proopiomelanocortin gene in teleost fishes // *Mol. Biol. Evol.* 2005. V. 22. № 12. P. 2417–2427.
- del Alamo Rodriguez D., Terriente Felix J., Diaz-Benjumea F.J. The role of the T-box gene optomotor-blind in patterning the *Drosophila* wing // *Dev. Biol.* 2004. V. 268. № 2. P. 481–492.
- Do C.B., Mahabhashyam M.S., Brudno M., Batzoglu S. ProbCons: Probabilistic consistency-based multiple sequence alignment // *Genome Res.* 2005. V. 15. № 2. P. 330–340.
- Duret L., Mouchiroud D. Determinants of substitution rates in mammalian genes: expression pattern affects selection intensity but not mutation rate // *Mol. Biol. Evol.* 2000. V. 17. № 1. P. 68–74.
- Echelard Y., Epstein D.J., St-Jacques B. *et al.* Sonic hedgehog, a member of a family of putative signaling molecules, is implicated in the regulation of CNS polarity // *Cell*. 1993. V. 75. № 7. P. 1417–1430.
- Edgar R.C. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity // *BMC Bioinformatics*. 2004. V. 5. № 113.
- Ekker S.C., Ungar A.R., Greenstein P. *et al.* Patterning activities of vertebrate hedgehog proteins in the developing eye and brain // *Curr Biol.* 1995. V. 5. № 8. P. 944–955.
- Eldredge N., Gould S.J. Punctuated equilibria: an alternative to phyletic gradualism // *Models in Paleobiology* / Ed. T.J.M. Schopf. San Francisco: Freeman Cooper and Co, 1972. P. 82–115.
- Enright A.J., Van Dongen S., Ouzounis C.A. An efficient algorithm for large-scale detection of protein families // *Nucl. Acids Res.* 2002. V. 30. № 7. P. 1575–1584.
- Erwin D.H., Davidson E.H. The last common bilaterian ancestor // *Development*. 2002. V. 129. № 13. P. 3021–3032.
- Ferrandiz C., Gu Q., Martienssen R. *et al.* Redundant regulation of meristem identity and plant architecture by FRUITFULL, APETALA1 and CAULIFLOWER // *Development*. 2000. V. 127. № 4. P. 725–734.
- Galant R., Carroll S.B. Evolution of a transcriptional repression domain in an insect Hox protein // *Nature*. 2002. V. 415. № 6874. P. 910–913.
- Gilbert S.F. *Developmental Biology*. 7th edition. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA. 2003. 838 p.
- Grassly N.C., Holmes E.C. A likelihood method for the detection of selection and recombination using nucleotide sequences // *Mol. Biol. Evol.* 1997. V. 14. № 3. P. 239–247.
- Guindon S., Gascuel O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood // *Syst. Biol.* 2003. V. 52. № 5. P. 696–704.
- Gunbin K.V., Omelyanchuk L.V., Ananko E.A. Two gene networks underlying the formation of the anterior-posterior and dorso-ventral wing imaginal disc compartment boundaries in *Drosophila melanogaster* // *Proc. of the BGRS*. V. 2. Novosibirsk: ICG, 2004. P. 56–59.
- Gunbin K.V., Afonnikov D.A., Kolchanov N.A. The evolution of the Hh-signaling pathway genes: a computer-assisted study // *In Silico Biol.* 2007. (In press).
- Hall T.M., Porter J.A., Young K.E. *et al.* Crystal structure of a Hedgehog autoprocessing domain: homology between Hedgehog and self-splicing proteins // *Cell*. 1997. V. 91. № 1. P. 85–97.
- Han C., Belenkaya T.Y., Khodoun M. *et al.* Distinct and collaborative roles of *Drosophila* EXT family proteins in morphogen signalling and gradient formation // *Development*. 2004. V. 131. № 7. P. 1563–1575.
- He X., Zhang J. Rapid subfunctionalization accompanied by prolonged and substantial neofunctionalization in duplicate gene evolution // *Genetics*. 2005. V. 169. № 2. P. 1157–1164.
- Held L.I. *Imaginal discs: the genetic and cellular logic of pattern formation*. Cambridge: Cambridge University Press, 2002. 476 p.
- Ho K.S., Scott M.P. Sonic hedgehog in the nervous system: functions, modifications and mechanisms // *Curr. Opin. Neurobiol.* 2002. V. 12. № 1. P. 57–63.
- Hombria J.C.-G., Lovegrove B. Beyond homeosis – Hox function in morphogenesis and organogenesis // *Differentiation*. 2003. V. 71. № 8. P. 461–476.
- Huangfu D., Anderson K.V. Signaling from Smo to Ci/Gli: conservation and divergence of Hedgehog pathways from *Drosophila* to vertebrates // *Development*. 2006. V. 133. № 1. P. 3–14.
- Hubbard T., Andrews D., Caccamo M. *et al.* Ensembl 2005 // *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. Database issue. D447–D453.
- Hulo N., Sigrist C.J., Le Saux V. *et al.* Recent improvements to the PROSITE database // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. Database issue. D134–D137.

- Ikram M.S., Neill G.W., Regl G. *et al.* GLI2 is expressed in normal human epidermis and BCC and induces GLI1 expression by binding to its promoter // *J. Invest. Dermatol.* 2004. V. 122. № 6. P. 1503–1509.
- Ingham P.W., McMahon A.P. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles // *Genes Dev.* 2001. V. 15. № 23. P. 3059–3087.
- Inoue H., Imamura T., Ishidou Y. *et al.* Interplay of signal mediators of decapentaplegic (Dpp): molecular characterization of mothers against dpp, Medea, and daughters against dpp // *Mol. Biol. Cell.* 1998. V. 9. № 8. P. 2145–2156.
- Jia J., Tong C., Wang B. *et al.* Hedgehog signalling activity of Smoothened requires phosphorylation by protein kinase A and casein kinase I // *Nature.* 2004. V. 432. № 7020. P. 1045–1050.
- Karpen H.E., Bukowski J.T., Hughes T. *et al.* The sonic hedgehog receptor patched associates with caveolin-1 in cholesterol-rich microdomains of the plasma membrane // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 22. P. 19503–19511.
- Katoh K., Kuma K., Toh H. *et al.* MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment // *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. № 2. P. 511–518.
- Katoh Y., Katoh M. Comparative genomics on Sonic hedgehog orthologs // *Oncol. Rep.* 2005. V. 14. № 4. P. 1087–1090.
- Kirkpatrick C.A., Dimitroff B.D., Rawson J.M. *et al.* Spatial regulation of Wingless morphogen distribution and signaling by Dally-like protein // *Dev. Cell.* 2004. V. 7. № 4. P. 513–523.
- Klüver N., Kondo M., Herpin A. *et al.* Divergent expression patterns of Sox9 duplicates in teleosts indicate a lineage specific subfunctionalization // *Dev. Genes Evol.* 2005. V. 215. № 6. P. 297–305.
- Krauss S., Concordet J.P., Ingham P.W. A functionally conserved homolog of the *Drosophila* segment polarity gene hh is expressed in tissues with polarizing activity in zebrafish embryos // *Cell.* 1993. V. 75. № 7. P. 1431–1444.
- Kumar S., Balczarek K.A., Lai Z.C. Evolution of the hedgehog gene family // *Genetics.* 1996. V. 142. № 3. P. 965–972.
- Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment // *Brief Bioinform.* 2004. V. 5. № 2. P. 150–163.
- Lagiou P., Signorello L.B., Mantzoros C.S. *et al.* Hormonal, lifestyle, and dietary factors in relation to leptin among elderly men // *Ann. Nutr. Metab.* 1999. V. 43. № 1. P. 23–29.
- Li W.H., Wu C.I., Luo C.C. A new method for estimating synonymous and nonsynonymous rates of nucleotide substitution considering the relative likelihood of nucleotide and codon changes // *Mol. Biol. Evol.* 1985. V. 2. № 2. P. 150–174.
- Liu R.Z., Sharma M.K., Sun Q. *et al.* Retention of the duplicated cellular retinoic acid-binding protein 1 genes (crabp1a and crabp1b) in the zebrafish genome by subfunctionalization of tissue-specific expression // *FEBS J.* 2005. V. 272. № 14. P. 3561–3571.
- Lum L., Beachy P.A. The Hedgehog response network: sensors, switches, and routers // *Science.* 2004. V. 304. № 5678. P. 1755–1759.
- Lynch M., Force A. The probability of duplicate gene preservation by subfunctionalization // *Genetics.* 2000. V. 154. № 1. P. 459–473.
- Mantzoros C.S. The role of leptin in human obesity and disease: a review of current evidence // *Ann. Intern. Med.* 1999. V. 130. № 8. P. 671–680.
- Mantzoros C.S., Moschos S.J. Leptin: in search of role(s) in human physiology and pathophysiology // *Clin. Endocrinol. (Oxf).* 1998. V. 49. № 5. P. 551–567.
- Marchler-Bauer A., Anderson J.B., Cherukuri P.F. *et al.* CDD: a Conserved Domain Database for protein classification // *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. Database issue. D192–D196.
- Massague J. TGFbeta signaling: receptors, transducers, and Mad proteins // *Cell.* 1996. V. 85. № 7. P. 947–950.
- Messier W., Stewart C.B. Episodic adaptive evolution of primate lysozymes // *Nature.* 1997. V. 385. № 6612. P. 151–154.
- Mitani J.C., Watts D.P. Demographic influences on the hunting behavior of chimpanzees // *Am. J. Phys. Anthropol.* 1999. V. 109. № 4. P. 439–454.
- Morell V. TreeBASE: the roots of phylogeny // *Science.* 1996. V. 273. № 5275. P. 569–570.
- Morris S.C. The Cambrian «explosion»: Slow-fuse or megatonnage // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2000. V. 97. № 9. P. 4426–4429.
- Moser M., Campbell G. Generating and interpreting the Brinker gradient in the *Drosophila* wing // *Dev. Biol.* 2005. V. 286. № 2. P. 647–658.
- Nakano Y., Nystedt S., Shivdasani A.A. *et al.* Functional domains and sub-cellular distribution of the Hedgehog transducing protein Smoothened in *Drosophila* // *Mech. Dev.* 2004. V. 121. № 6. P. 507–518.
- Nakayama K.I., Nakayama K. Regulation of the cell cycle by SCF-type ubiquitin ligases // *Semin. Cell Dev. Biol.* 2005. V. 16. № 3. P. 323–333.
- Nasiadka A., Dietrich B.H., Krause H.M. Anterior-posterior patterning in the *Drosophila* embryo // *Advances in developmental biology and biochemistry* / Ed. M. DePamphilis. Amsterdam, N.Y.: Elsevier, 2002. V. 12. P. 155–204.
- Nei M., Gojobori T. Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous

- nucleotide substitutions // *Mol. Biol. Evol.* 1986. V. 3. № 5. P. 418–426.
- Notredame C., Higgins D.G., Heringa J. T-Coffee: A novel method for fast and accurate multiple sequence alignment // *J. Mol. Biol.* 2000. V. 302. № 1. P. 205–217.
- Nybakken K., Perrimon N. Hedgehog signal transduction: recent findings // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2002. V. 12. № 5. P. 503–511.
- O'Connor M.B., Umulis D., Othmer H.G. *et al.* Shaping BMP morphogen gradients in the *Drosophila* embryo and pupal wing // *Development*. 2006. V. 133. № 2. P. 183–193.
- Panakova D., Sprong H., Marois E. *et al.* Lipoprotein particles are required for Hedgehog and Wingless signaling // *Nature*. 2005. V. 435. № 7038. P. 58–65.
- Pires-da Silva A., Sommer R.J. The evolution of signalling pathways in animal development // *Nature Rev. Genet.* 2003. V. 4. № 1. P. 39–49.
- Prince V.E., Pickett F.B. Splitting pairs: the diverging fates of duplicated genes // *Nature Rev. Genet.* 2002. V. 3. № 11. P. 827–837.
- Pruitt K.D., Tatusova T., Maglott D.R. NCBI Reference Sequence (RefSeq): a curated non-redundant sequence database of genomes, transcripts and proteins // *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. Database issue. D501–D504.
- Pupko T., Galtier N. A covarion-based method for detecting molecular adaptation: application to the evolution of primate mitochondrial genomes // *Proc. Biol. Sci.* 2002. V. 269. № 1498. P. 1313–1316.
- Pupko T., Bell R.E., Mayrose I. *et al.* Rate4Site: an algorithmic tool for the identification of functional regions in proteins by surface mapping of evolutionary determinants within their homologues // *Bioinformatics*. 2002. V. 18. Suppl 1. S71–S77.
- Qin B., Lam S.S., Lin K. Crystal structure of a transcriptionally active Smad4 fragment // *Structure*. 1999. V. 7. № 12. P. 1493–1503.
- Raftery L.A., Sutherland D.J. Gradients and thresholds: BMP response gradients unveiled in *Drosophila* embryos // *Trends Genet.* 2003. V. 19. № 12. P. 701–708.
- Regl G., Neill G.W., Eichberger T. *et al.* Human GLI2 and GLI1 are part of a positive feedback mechanism in Basal Cell Carcinoma // *Oncogene*. 2002. V. 21. № 36. P. 5529–5539.
- Ribeiro C., Petit V., Affolter M. Signaling systems, guided cell migration, and organogenesis: insights from genetic studies in *Drosophila* // *Dev. Biol.* 2003. V. 260. № 1. P. 1–8.
- Riechmann V., Ephrussi A. Axis formation during *Drosophila* oogenesis // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2001. V. 11. № 4. P. 374–383.
- Ronshaugen M., McGinnis N., McGinnis W. Hox protein mutation and macroevolution of the insect body plan // *Nature*. 2002. V. 415. № 6874. P. 914–917.
- Ruiz i Altaba A., Palma V., Dahmane N. Hedgehog-Gli signalling and the growth of the brain // *Nat. Rev. Neurosci.* 2002. V. 3. № 1. P. 24–33.
- Russell J., Gennissen A., Nusse R. Isolation and expression of two novel Wnt/wingless gene homologues in *Drosophila* // *Development*. 1992. V. 115. № 2. P. 475–485.
- Sagerstrom C.G. PbX marks the spot // *Dev. Cell*. 2004. V. 6. № 6. P. 737–738.
- Salazar-Ciudad I., Jernvall J., Newman S.A. Mechanisms of pattern formation in development and evolution // *Development*. 2003. V. 130. № 10. P. 2027–2037.
- Schmidt H.A., Strimmer K., Vingron M. *et al.* TREE-PUZZLE: maximum likelihood phylogenetic analysis using quartets and parallel computing // *Bioinformatics*. 2002. V. 18. № 3. P. 502–504.
- Schweizer L., Varmus H. Wnt/Wingless signaling through beta-catenin requires the function of both LRP/Arrow and frizzled classes of receptors // *BMC Cell Biol.* 2003. V. 4. № 4.
- Sharma M.K., Liu R.Z., Thisse C. *et al.* Hierarchical subfunctionalization of *fabp1a*, *fabp1b* and *fabp10* tissue-specific expression may account for retention of these duplicated genes in the zebrafish (*Danio rerio*) genome // *FEBS J.* 2006. V. 273. № 14. P. 3216–3229.
- Shimeld S.M. The evolution of the hedgehog gene family in chordates: insights from amphioxus hedgehog // *Dev. Genes Evol.* 1999. V. 209. № 1. P. 40–47.
- Shubin N.H., Daeschler E.B., Jenkins F.A. Jr. The pectoral fin of *Tiktaalik roseae* and the origin of the tetrapod limb // *Nature*. 2006. V. 440. № 7085. P. 764–771.
- Siltberg J., Liberles D.A. A simple covarion-based approach to analyse nucleotide substitution rates // *J. Evol. Biol.* 2002. V. 15. № 4. P. 588–594.
- Smith C.M., Shindyalov I.N., Veretnik S. *et al.* The protein kinase resource // *Trends Biochem. Sci.* 1997. V. 22. № 11. P. 444–446.
- Stanford C.B. Chimpanzee and red colobus: the ecology of predator and prey. Cambridge (MA): Harvard University Press, 1998. 296 p.
- Stathopoulos A., Levine M. Dorsal gradient networks in the *Drosophila* embryo // *Dev. Biol.* 2002. V. 246. № 1. P. 57–67.
- Stecca B., Ruiz i Altaba A. Brain as a paradigm of organ growth: Hedgehog-Gli signaling in neural stem cells and brain tumors // *J. Neurobiol.* 2005. V. 64. № 4. P. 476–490.
- Stedman H.H., Kozyak B.W., Nelson A. *et al.* Myosin gene mutation correlates with anatomical changes in the human lineage // *Nature*. 2004. V. 428. № 6981. P. 415–418.

- Sutherland D.J., Li M., Liu X.Q. *et al.* Stepwise formation of a SMAD activity gradient during dorsal-ventral patterning of the *Drosophila* embryo // *Development*. 2003. V. 130. № 23. P. 5705–5716.
- Suzuki Y., Gojobori T., Nei M. ADAPTSITE: detecting natural selection at single amino acid sites // *Bioinformatics*. 2001. V. 17. № 7. P. 660–661.
- Swanson W.J., Vacquier V.D. The rapid evolution of reproductive proteins // *Nat. Rev. Genet.* 2002. V. 3. № 2. P. 137–144.
- Tang H., Wu C.-I. A new method for estimating nonsynonymous substitutions and its applications to detecting positive selection // *Mol. Biol. Evol.* 2006. V. 23. № 2. P. 372–379.
- The Tree of Life Web Project / Ed. D.R. Maddison, K.-S. Schulz. 1996–2006. Internet address: <http://tolweb.org>
- Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice // *Nucl. Acids Res.* 1994. V. 22. № 22. P. 4673–4680.
- Thompson J.D., Thierry J.C., Poch O. RASCAL: rapid scanning and correction of multiple sequence alignments // *Bioinformatics*. 2003. V. 19. № 9. P. 1155–1161.
- Torgerson D.G., Singh R.S. Rapid evolution through gene duplication and subfunctionalization of the testes-specific alpha4 proteasome subunits in *Drosophila* // *Genetics*. 2004. V. 168. № 3. P. 1421–1432.
- Tsumaki N., Nakase T., Miyaji T. *et al.* Bone morphogenetic protein signals are required for cartilage formation and differently regulate joint development during skeletogenesis // *J. Bone Miner. Res.* 2002. V. 17. № 5. P. 898–906.
- Tyurina O.V., Guner B., Popova E. *et al.* Zebrafish Gli3 functions as both an activator and a repressor in Hedgehog signaling // *Dev. Biol.* 2005. V. 277. № 2. P. 537–556.
- Waddington C.H. The evolution of an evolutionist. N.Y.: Cornell University Press, Ithaca, 1975. 219 p.
- Wang B., Fallon J.F., Beachy P.A. Hedgehog-regulated processing of Gli3 produces an anterior/posterior repressor gradient in the developing vertebrate limb // *Cell*. 2000. V. 100. № 4. P. 423–434.
- Wang G., Long J., Matsuura I. *et al.* The Smad3 linker region contains a transcriptional activation domain // *Biochem. J.* 2005. V. 386. Pt. 1. P. 29–34.
- Wang Y.Q., Su B. Molecular evolution of microcephalin, a gene determining human brain size // *Hum. Mol. Genet.* 2004. V. 13. № 11. P. 1131–1137.
- Watanabe H., de Caestecker M.P., Yamada Y. Transcriptional cross-talk between Smad, ERK1/2, and p38 mitogen-activated protein kinase pathways regulates transforming growth factor-beta-induced aggrecan gene expression in chondrogenic ATDC5 cells // *J. Biol. Chem.* 2001. V. 276. № 17. P. 14466–14473.
- Watanabe M., Masuyama N., Fukuda M. *et al.* Regulation of intracellular dynamics of Smad4 by its leucine-rich nuclear export signal // *EMBO Rep.* 2000. V. 1. № 2. P. 176–182.
- Weigel D., Alvarez J., Smyth D.R. *et al.* LEAFY controls floral meristem identity in *Arabidopsis* // *Cell*. 1992. V. 69. № 5. P. 843–859.
- Weigmann K., Klapper R., Strasser T. *et al.* FlyMove – a new way to look at development of *Drosophila* // *Trends Genet.* 2003. V. 19. № 6. P. 310–311.
- Wicks S.J., Lui S., Abdel-Wahab N. *et al.* Inactivation of smad-transforming growth factor beta signaling by Ca(2+)-calmodulin-dependent protein kinase II // *Mol. Cell Biol.* 2000. V. 20. № 21. P. 8103–8111.
- Wyckoff G.J., Wang W., Wu C.I. Rapid evolution of male reproductive genes in the descent of man // *Nature*. 2000. V. 403. № 6767. P. 304–309.
- Xia X., Xie Z. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution // *J. Hered.* 2001. V. 92. № 4. P. 371–373.
- Yang Z., Swanson W.J., Vacquier V.D. Maximum-likelihood analysis of molecular adaptation in abalone spermlysin reveals variable selective pressures among lineages and sites // *Mol. Biol. Evol.* 2000. V. 17. № 10. P. 1446–1455.
- Yang Z. PAML: a program package for phylogenetic analysis by maximum likelihood // *Comput. Appl. Biosci.* 1997. V. 13. № 5. P. 555–556.
- Yang Z. Likelihood ratio tests for detecting positive selection and application to primate lysozyme evolution // *Mol. Biol. Evol.* 1998. V. 15. № 5. P. 568–573.
- Zhai L., Chaturvedi D., Cumberledge S. *Drosophila* wnt-1 undergoes a hydrophobic modification and is targeted to lipid rafts, a process that requires porcupine // *J. Biol. Chem.* 2004. V. 279. № 32. P. 33220–33227.
- Zhang J. Evolution of the human ASPM gene, a major determinant of brain size // *Genetics*. 2003. V. 165. № 4. P. 2063–2070.

AROMORPHOSES AND THE ADAPTIVE MOLECULAR EVOLUTION

K.V. Gunbin, V.V. Suslov, N.A. Kolchanov

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: genkvg@bionet.nsc.ru

Summary

Using the GeneNet technology, based on the experimental data in scientific publications, the gene networks for the three signaling cascades were reconstructed. These were Hh, Dpp (BMP) and Wg (WNT) that play an important role in animal embryogenesis. On the basis of information extracted from the GenBank and Ensembl databases, samples of the key genes for these networks were set up, and their molecular evolutionary patterns were studied. Positive selection of gene regions coding protein was implemented by the weighed fixation ratio of nonsynonymous (K_a) to synonymous (K_s) substitutions. Positive selection of morphogens, their receptors, and proteins that transduce the signal through cytoplasm from morphogens are frequently interrelated on the evolutionary tree, end in the majority of cases, they match with the divergence of vertebrates and invertebrates. The relation between positive selection of Hh, BMP and WNT-cascades and molecular-genetic mechanisms of aromorphoses are discussed.