

Struktura, organizatsiia i évolutsiia genoma pozvonochnykh / A. A. Ginatulin ; otvetstvennyiĭ redaktor N. N. Voronĭšov.

Contributors

Ginatulin, A. A.
Voronĭšov, N. N.

Publication/Creation

Moskva : Izd-vo "Nauka", 1984.

Persistent URL

<https://wellcomecollection.org/works/mhxpuaaw9>

License and attribution

You have permission to make copies of this work under a Creative Commons, Attribution, Non-commercial license.

Non-commercial use includes private study, academic research, teaching, and other activities that are not primarily intended for, or directed towards, commercial advantage or private monetary compensation. See the Legal Code for further information.

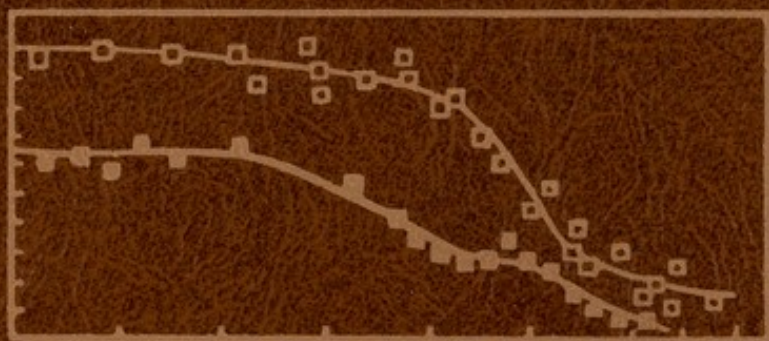
Image source should be attributed as specified in the full catalogue record. If no source is given the image should be attributed to Wellcome Collection.



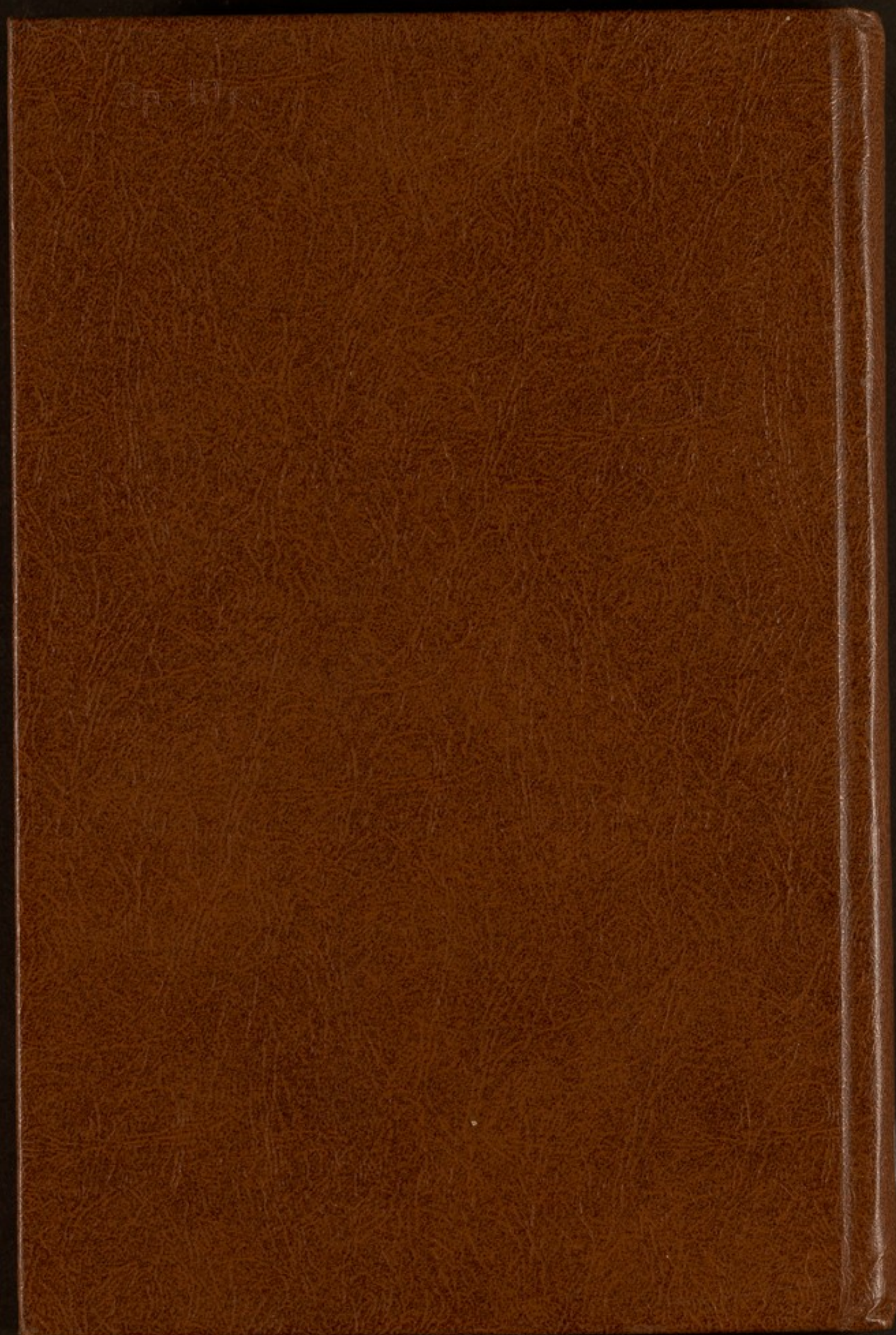
Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
<https://wellcomecollection.org>

А.А.ГИНАТУЛИН

СТРУКТУРА
ОРГАНИЗАЦИЯ
И ЭВОЛЮЦИЯ
ГЕНОМА
ПОЗВОНОЧНЫХ

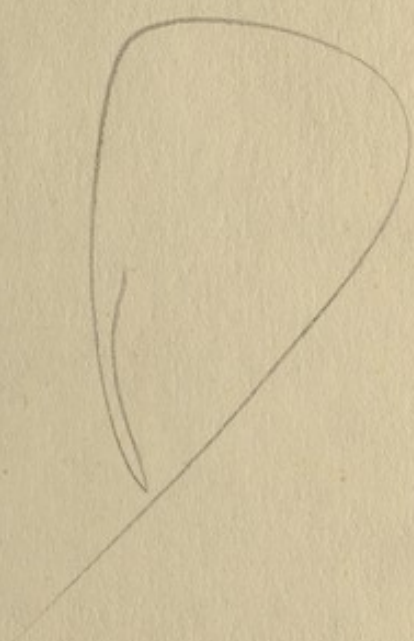


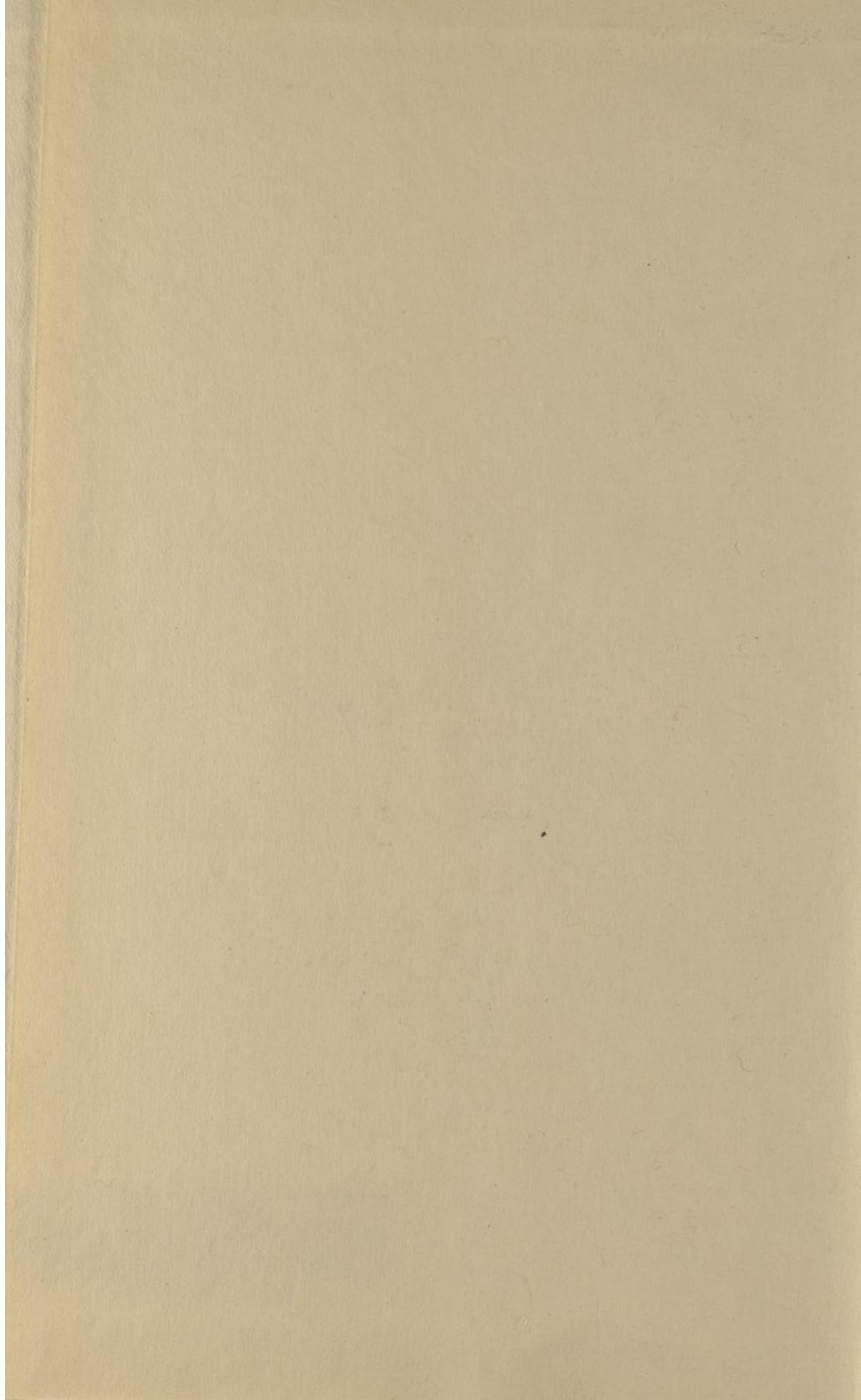
ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»





22500296104





АКАДЕМИЯ НАУК СССР
ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
БИОЛОГО-ПОЧВЕННЫЙ ИНСТИТУТ

А.А.ГИНАТУЛИН

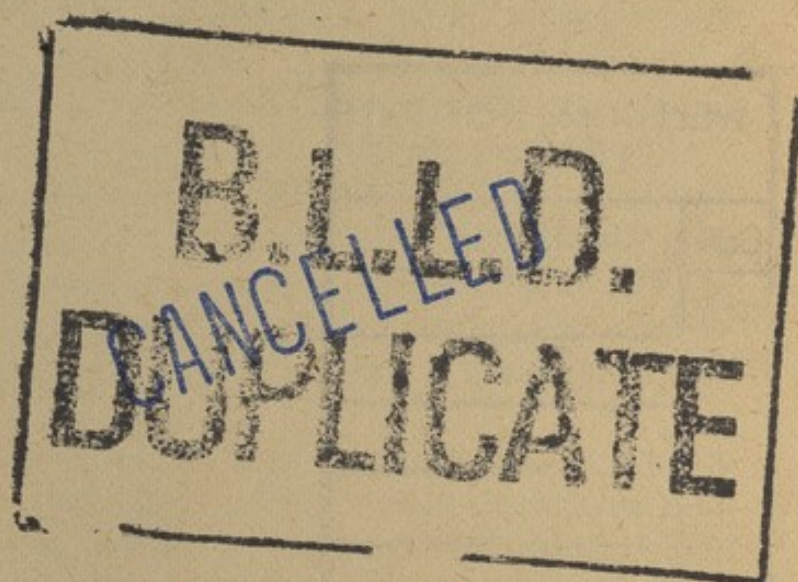
СТРУКТУРА ОРГАНИЗАЦИЯ И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМА ПОЗВОНОЧНЫХ

Ответственный редактор
профессор Н. Н. ВОРОНЦОВ



ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКА»

МОСКВА 1984



А. А. Гинатулин. Структура, организация и эволюция генома позвоночных. М.: Наука, 1984.

В книге обобщены современные данные по исследованию генома позвоночных, касающиеся размера генома, содержания различных групп нуклеотидных последовательностей, их организации и функциональной значимости в геноме. Рассмотрены особенности организации генома в разных классах позвоночных. В сравнительно-эволюционном аспекте проанализированы данные по организации генетического материала других представителей эукариот. Приводятся списки размеров генома более тысячи видов позвоночных.

Для генетиков, специалистов по молекулярной биологии, цитологов, эволюционистов.

20 169 641

Рецензенты:

В. А. КРАСИЛОВ, А. И. ПУДОВКИН

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY	
Coll.	WaiMOmec
Coll.	
No.	QH

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ
В «КЛАССИЧЕСКОЙ»
И «СОВРЕМЕННОЙ» БИОЛОГИИ

Открытие избыточности количества ДНК у эукариот, существования уникальных и повторяющихся фракций ДНК поставило множество вопросов перед молекулярными биологами, генетиками, эволюционистами. Какова функция или функции повторяющихся фракций ДНК, каково количественное и топографическое соотношение между уникальными и разными классами повторяющихся последовательностей ДНК? Характеризуются ли высшие таксоны органического мира общностью организации генома и нельзя ли общность этой организации использовать для широкой классификации, или же сходство в распределении повторяющихся и уникальных последовательностей может возникать независимо и параллельно в разных неродственных группах организмов? Если последнее предположение справедливо, то что определяет конвергенцию неродственных таксонов по организации их геномов — естественный отбор, предполагающий большую или меньшую адаптивную ценность определенной аранжировки генетического материала для конкретных условий, или же случайный дрейф?

Другая группа вопросов встает при изучении соотношения между молекулярной и надмолекулярной структурами генетического аппарата. Как соотносится тип организации генома со строением кариотипа, структурами хромосом, распределением в них эу- и гетерохроматина? Этот вопрос может быть решен только при применении на одних и тех же объектах различных молекулярно-биологических и цитогенетических подходов.

Для ответа на некоторые из поставленных выше вопросов (а число их может быть даже при самом поверхностном рассмотрении резко увеличено) возможны разные подходы. Один из возможных подходов — сравнительный. Сравнительный метод относительно нов лишь для молекулярной биологии, но это один из традиционнейших подходов в старых классических областях биологии. Сравнительная анатомия и сравнительная эмбриология в XIX в., сравнительная физио-

логия и сравнительная гистология в первой половине XX в., сравнительная цитология, в том числе и ультраструктурная сравнительная цитология, во второй половине нашего столетия не только и не столько добыли массу нового фактического материала по частным деталям строения и функционирования тех или иных организмов, а по сути дела смогли принципиально изменить идеологию и методологию собственных наук, наполнив их новым эволюционным содержанием. Более того, общебиологические выводы, последовавшие из сравнительного рассмотрения тех или иных структур, явлений и процессов, не просто дали дополнительные факты к разделам курса дарвинизма, посвященным доказательствам эволюционного процесса, а смогли в ряде случаев принципиально изменить наши взгляды на механизмы протекания эволюции. Напомним здесь лишь об ультраструктурных и молекулярно-генетических подтверждениях гипотезы симбиогенетического происхождения эукариотической клетки, развивавшейся в начале века А. С. Фаминцыным и К. С. Мережковским и позднее практически забытой. А ведь из факта существования симбиогенеза следует признание возможности недивергентного пути макроэволюции, упорно отрицаемого многими ортодоксальными сторонниками синтетической теории эволюции.

В последние два десятилетия сравнительные подходы начинают с разной степенью интенсивности развиваться в генетике и молекулярной биологии. На прошедших в рамках XIV Международного генетического конгресса в Москве (1978 г.) встречах генетиков-эволюционистов было отмечено, что специфика и разнообразие строения и функционирования генетического аппарата даже в пределах эукариот так велики и непохожи друг на друга, что ныне человек, блестяще знакомый с частной генетикой даже такого изученного объекта, как дрозофила, вряд ли сможет составить сколько-нибудь полное впечатление о путях становления и функционирования генетического аппарата в целом, говорить о его эволюции. Сравнительно-эволюционное направление в молекулярно-биологических исследованиях имеет давние традиции, связанные с именем А. Н. Белозерского и его школы, ныне возглавляемой А. С. Антоновым.

При разработке планов исследований в Лаборатории эволюционной зоологии и генетики Биолого-почвенного института ДВНЦ АН СССР в начале 1970-х годов мы решили попытаться соединить воедино сравнительно-генетические (кариологические, цитогенетические, сравнительно-биохимические и иммуногенетические) подходы с молекулярно-

биологическими на одних и тех же модельных объектах. Представляемая читателям монография А. А. Гинатулина отражает ту часть исследований, которая посвящена анализу строения, организации и функционирования генома позвоночных. Однако автор не ограничился представлением лишь собственных данных, а свел ныне уже достаточно обширную литературу по размерам, структуре, организации и функционированию генома эукариот.

Среди многих сравнительно-биологических дисциплин старейшей является сравнительная анатомия. Когда сегодня в десятках лабораторий мира молекулярные биологи воссоздают аминокислотную последовательность тех или иных белковых молекул или последовательность нуклеотидов тех или иных нуклеиновых кислот, то они по сути дела исследуют анатомию этих молекул. А сравнительный анализ этих молекул требует той же методологии, какая требовалась сравнительным анатомам в прошлом веке и каковая была разработана применительно к макроскопическому уровню исследований за 150-летний период развития сравнительной анатомии. Продуктивность использования принципов сравнительной анатомии в сравнительных молекулярно-биологических исследованиях не подлежит сомнениям. Ведь во многих случаях онтогенез бурно развивающейся молекулярной биологии удивительно напоминает ранние стадии онтогенеза сравнительной анатомии и раннего эволюционизма.

Вступив на этот уровень онтогенеза, многие сравнительные и эволюционные молекулярные биологи начали строить филогенетические древа таксонов на основании сравнения структур отдельных белков, говорить о равномерности темпов аминокислотных замещений и о «молекулярных часах». Думается, что этот этап онтогенеза мог быть пройден значительно быстрее, если бы между внешне столь далекими, а по сути дела настолько близкими дисциплинами, как сравнительная анатомия и сравнительная генетика и сравнительная молекулярная биология, не существовало пропасти.

Настоящая монография написана молекулярным биологом. В ходе своих работ автор постоянно общался с цитогенетиками, зоологами, эволюционистами. Итоги этих контактов, вероятно, будут видны читателям. Я был бы рад, если бы публикация этой книги привлекла внимание не только обширностью содержащегося в ней фактического материала, но и способствовала бы дальнейшему развитию междисциплинарных контактов биологов классического и неклассического профиля.

Профессор Н. Н. Воронцов

Предисловие автора

Основные достижения молекулярной генетики были сделаны при изучении наиболее просто устроенных безъядерных организмов (прокариот), вирусов и бактерий, или простых ядерных организмов (эукариот), таких, как гриб нейроспора. Однако при попытках применить закономерности строения и функционирования генетического материала, открытые на прокариотах, к эукариотам исследователи неизменно сталкивались с трудностями, порой необъяснимыми с точки зрения известных свойств генома высших организмов.

Первой удивительной чертой генома эукариот, выявленной еще на заре молекулярной генетики, было громадное разнообразие высших организмов в количестве ДНК на клетку, т. е. в размерах генома [Mirsky, Ris, 1951]. Так, в диплоидном геноме (2С) губок содержится 0,10—0,12 пикограмма (пг) ДНК, крабов — 1,5 пг, моллюсков и большинства позвоночных — 2—10 пг, а у хвостатых амфибий и некоторых видов растений — до 150—170 пг. Эти данные впоследствии дополнялись и уточнялись, но факт оставался фактом: представители разных таксонов даже такой высокоорганизованной группы, как позвоночные, могут иметь геномы, различающиеся по величине в 100—300 раз. В то же время согласно расчетам количество ДНК, необходимое для кодирования аминокислотных последовательностей белков, вместе с ДНК, входящей в состав генов тРНК и рРНК, не превышает 1—3% генома млекопитающих. Проблема генетической избыточности вот уже более 30 лет остается одной из самых загадочных в молекулярной биологии и генетике высших организмов.

Важной вехой в истории исследования генома эукариот стало открытие повторяющихся последовательностей ДНК [Britten, Kohne, 1968]. При анализе процесса реассоциации ДНК более чем у 50 видов эукариот было установлено, что в геноме высших организмов некоторые участки нуклеотидных последовательностей многократно повторяются (так называемые повторы). Содержание этих последовательностей в геномах некоторых эукариот может достигать 80—90%, а повторяемость — миллионов копий. Затем было показано, что повторяющиеся последовательности в геномах боль-

шинства изученных к тому времени видов эукариот регулярно чередуются с неповторяющимися (уникальными) последовательностями с периодом чередования 1—2 тыс. пар нуклеотидов (т.п.н.) — так называемый «Хепорус-тип» организации генома [Davidson et al., 1973, 1975; Galau et al., 1976]. Однако в дальнейшем были обнаружены виды с периодом чередования повторяющихся и уникальных участков в геноме, в десятки («Drosophila-тип») [Manning et al., 1975; Гинатулин и др., 1979] и даже в сотни раз [Гинатулин, Гинатулина, 1979а, б; обзоры Schmidtke, Epplen, 1980; Гинатулин, 1981] более длинным. Таким образом, первоначально усмотренная универсальность организации повторяющихся и уникальных последовательностей в геномах эукариот не подтвердилась. Какова функциональная значимость того или иного способа организации последовательностей в геноме, пока не ясно.

Методом гибридизации высокомеценных повторяющихся последовательностей с препаратами метафазных хромосом было показано, что высокоповторяющиеся (более миллиона копий в геноме) сателлитные последовательности ряда животных и растений локализуются в прицентромерных гетерохроматиновых районах хромосом [Jones, 1970; Pardue, Gall, 1970]. Однако в других случаях даже тщательное изучение прицентромерного гетерохроматина не позволило обнаружить в нем повторяющиеся последовательности [Arrighi et al., 1974].

Несколько лет назад была выявлена еще одна особенность генома эукариот — были обнаружены нуклеотидные последовательности с меняющейся локализацией в политенных хромосомах мух разных линий [Ilyin et al., 1978], так называемые «мобильные диспергированные гены».

Однако самые большие различия между про- и эукариотами были обнаружены на уровне генов. Если у бактерий кодирующие гены в основном являются непрерывными последовательностями нуклеотидов, то практически у всех эукариот, от слизевиков и дрожжей до млекопитающих, гены являются прерывистыми: кодирующая часть гена один или несколько раз прерывается некодирующей частью [Крамеров, 1982].

Открытие повторяющихся последовательностей и явления прерывистости генов, объяснив в некоторой степени причину избыточности ДНК, вместе с тем не дало ответа на основной вопрос: для чего нужна организму эта избыточная ДНК?

В связи с этим вопросом были выдвинуты различные гипотезы и предложения. Авторы наиболее ранних и известных

гипотез приписывают повторам функцию регуляции активности генов [Britten, Davidson, 1969; Georgiev, 1969; Davidson, Britten, 1973, 1979; Davidson et al., 1977]. Авторы других гипотез отводят повторам роль регулятора частоты рекомбинации участков хромосом [Miklos, Nankivell, 1976; Miklos et al., 1980] или правильного поведения хромосом в мейозе [Walker, 1971a, b] и т. д. Некоторые авторы склонны считать, что большая часть ДНК не имеет конкретной функции и не выражается специфическим образом в фенотипе организма, а лишь существует в геноме подобно паразиту. Это так называемая «эгоистичная» ДНК, которая, возможно, возникает путем образования добавочных копий (саморепликация) самой себя в геноме [Doolittle, Sapienza, 1980; Orgel, Crick, 1980].

Все высказанные гипотезы были несколько категоричны, односторонни, и поэтому с возрастанием количества накопленных данных некоторые из них постепенно утрачивали свои позиции или вовсе отвергались. Однако их положительная роль, безусловно, в том, что каждая из выдвигаемых гипотез стимулировала дальнейшие исследования в познании генома высших организмов. Вопрос же о функциях большей части повторяющихся и уникальных последовательностей остается открытым по сей день.

Существуют различные подходы к решению этой проблемы. Чаще всего применяется подход, при котором всесторонне исследуются определенные организмы, обычно лабораторные животные или виды, имеющие важное хозяйственное значение.

Однако более перспективен в исследованиях генома эукариот, по-видимому, эволюционный подход. «Эволюционный подход дает возможность достаточно глубоко понять данные специальной биологической дисциплины» [Тимофеев-Ресовский и др., 1977]. «Любые теории и гипотезы в биологии приобретают логическое завершение только тогда, когда они удовлетворяют эволюционному принципу» [Яблоков, Юсуфов, 1981].

В 1950-х годах синтез эволюционизма и молекулярной биологии привел к возникновению такого направления, как молекулярная эволюция. «Изучение информационных макромолекул... это очень плодотворный подход, и можно полагать, что важность получаемых при его помощи результатов для понимания биологической эволюции будет все больше возрастать», — писал в 1978 г. известный американский генетик-эволюционист Ф. Айяла [Ayala, 1978].

Несмотря на несомненную важность этого направления,

в области молекулярной эволюции работает не так уж много групп. В нашей стране основная заслуга в развитии молекулярной эволюции принадлежит А. Н. Белозерскому и его ученикам, применявшим методы молекулярной биологии для задач систематики. Это привело к возникновению гено-систематики (см. [Белозерский, Спирин, 1960]; обзоры: [Антонов, 1969, 1973, 1974, 1975, 1980; Белозерский, Антонов, 1972; Медников, 1974, 1980]). Из зарубежных исследователей следует отметить группу Бриттена и Дэвидсона, которая наряду с разработкой важнейших вопросов общего плана (см. цитируемые выше работы) занимается эволюцией генетического материала беспозвоночных, группу популяционных генетиков Айяла, группу молекулярных генетиков Шмидтке и Эпплена и некоторые другие группы.

Кроме анализа «статистического» набора фрагментов ДНК в исследованиях организации генома, когда изучается весь геном в целом, в последние годы появились методы картирования генома с помощью рестрикционных эндонуклеаз и секвенирования последовательностей (см. [Баев, 1980]). Однако этими методами охарактеризовано лишь небольшое число генов в ДНК некоторых лабораторных животных (см. обзоры: [Дубинин, 1979; Газарян, Тарантул, 1980; Schmidtke, Erplen, 1980; Крамеров, 1982]).

Настоящая работа посвящена сопоставлению данных по молекулярной структуре и организации генома у представителей различных классов позвоночных и выяснению особенностей изменения деталей организации генома в ходе эволюции позвоночных.

В поисках закономерностей эволюционного развития на молекулярном уровне, в попытках решить проблему генетической избыточности и другие проблемы очень удобным объектом являются позвоночные. «Позвоночные — самая высокоорганизованная и сложно построенная группа животных. Развитие подтипа протекало целиком в течение исторического периода развития Земли, не заходя корнями в докембрий. Филогенетические связи между отдельными классами позвоночных могут быть установлены с гораздо большей точностью, чем в любом другом типе животных. Все это является причиной, почему позвоночные были и остаются излюбленной группой при изучении путей и закономерностей эволюционного развития и наиболее благодарным объектом для сравнительно-анатомических и эволюционно-морфологических исследований» [Обручев, 1964]. Можно добавить, что тонкая структура хромосом, кариология, а также макро- и микроэволюционные процессы у позвоночных изучены

лучше, чем у других групп животных. Поэтому совершенно естественно, что и для молекулярно-генетических и молекулярно-эволюционных исследований наиболее подходящим объектом являются также позвоночные.

Начиная с 1974 г. в лаборатории эволюционной зоологии и генетики Биолого-почвенного института ДВНЦ АН СССР по инициативе профессора Н. Н. Воронцова проводились интенсивные работы по исследованию структуры и организации генома позвоночных, большей частью млекопитающих. За время исследований была изучена структура генома почти 40 видов и подвидов и организация генома 16 видов, что составило 30 и 40% соответственно от всех изученных к настоящему времени позвоночных. Все экспериментальные работы и обсуждение результатов были проведены автором совместно с Л. К. Гинатулиной.

Автор считает своим приятным долгом принести глубокую благодарность всем, кто содействовал проведению экспериментальных работ и формированию научных представлений.

Итогом проведенных исследований и научных дискуссий явилась эта монография. Однако обзор собственных и литературных данных только по позвоночным животным не дал бы полного представления о результатах, достигнутых к настоящему времени в этой области. Поэтому, кроме подробного анализа данных по изучению генома позвоночных, в книге приводится краткий обзор результатов исследований беспозвоночных, грибов и зеленых растений и на основании этого материала как бы подводится итог пятнадцатилетнему изучению структуры и организации генома эукариот, проведенному в основном методом реассоциации ДНК.

В предлагаемой читателю книге большое место занимает анализ собственных результатов и собственных рассуждений. Из-за ограниченного объема книги автор не касался многих аспектов исследования генов и других генетических структур. Так, почти совершенно не освещаются вопросы рестриктазного анализа последовательностей ДНК потому что они, во-первых, почти не противоречат данным реассоциационного анализа ДНК, а во-вторых, еще ждут полного обзора со стороны специалиста, работающего в этой области. Автор также не касался многих аспектов молекулярной генетики, подробно изложенных в вышедших недавно книгах, таких, как монографии А. А. Нейфаха и М. Я. Тимофеевой [1977, 1978], Б. Ф. Ванюшина и Г. Д. Бердышева [1977], Г. Д. Бердышева и Н. А. Проценко [1978], Г. Д. Бердышева и др. [1980], А. С. Антонова [1983], в переводах книг К. Бостока и Э. Самнера [1981], С. Дарлингтона и Л. ЛаКура [1980].

ВВЕДЕНИЕ

Основные понятия

Как и в любой достаточно молодой области научного познания с еще не устоявшейся терминологией, в молекулярной биологии и молекулярной генетике часто одни и те же понятия обозначаются различными терминами, что создает определенные трудности в их использовании и толковании. Поэтому кажется целесообразным, прежде чем начать изложение материала, кратко пояснить суть применяемых нами понятий и терминов. Во всех случаях из нескольких синонимических терминов выбирались те, которые ближе всего по смыслу к определяемому ими понятию. Для того чтобы облегчить чтение книги читателям-негенетикам, кратко поясняются также основные известные и устоявшиеся понятия общей и молекулярной генетики, молекулярной биологии.

Прокариоты — организмы, не обладающие оформленным клеточным ядром и типичным хромосомным аппаратом. К прокариотам относятся бактерии, синезеленые, риккетсии и микоплазмы.

Эукариоты — организмы, обладающие оформленным клеточным ядром, отграниченным от цитоплазмы ядерной оболочкой. Генетический материал заключен в хромосомах. Характерен половой процесс.

Карิโอтип — набор хромосом, типичный для индивида или родственных групп индивидов; характеризуется величиной, морфологией и числом хромосом. Одни организмы или ткани содержат одинарный (гаплоидный) набор хромосом (n), другие — двукратный, трехкратный, четырехкратный и т. д. (соответственно диплоидный, триплоидный, тетраплоидный и т. д.) наборы хромосом ($2n$, $3n$, $4n$ и т. д.). По положению первичной перетяжки — центромеры, делящей хромосомы на два плеча, хромосомы называют акроцентрическими или телоцентрическими, если второе плечо очень короткое, почти незаметное; субметацентрическими, если второе плечо хорошо заметно, но не равно по величине первому; метацентрическими, если плечи равные или почти равные. Описанные свойства хромосом присущи им только на одной из стадий клеточного деления — метафазе, когда хромосомы находятся

в наиболее упакованном состоянии. Наоборот, на стадии интерфазы хромосомы упакованы наименее плотно. При переходе от некоторых периодов стадии интерфазы к метафазе (через ряд промежуточных стадий) комплекс ДНК с белками, называемый хроматином, претерпевает сокращение в линейных размерах (компактизацию) приблизительно в 10 тыс. раз [Георгиев, Бакаев, 1978], постепенно превращаясь в видимую в световой микроскоп метафазную хромосому. Однако некоторые участки хромосом или даже целые хромосомы остаются конденсированными и хорошо окрашенными в течение почти всего клеточного цикла. Эти участки были названы *гетерохроматином*, а участки, деконденсирующиеся к началу интерфазы и слабо окрашивающиеся в этот период, — *эухроматином*. Гетерохроматические районы хромосом выявляются при С-методе окрашивания хромосом в виде так называемых С-полос.

ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота — высокополимерное соединение, являющееся носителем генетической (наследственной) информации у всех клеточных организмов. У эукариот ДНК вместе с белками (гистоновыми и некоторыми кислыми) образует вещество хромосом.

Последовательности ДНК (полинуклеотидные последовательности, последовательности нуклеотидов) — длинные неразветвленные полимерные участки молекулы, образованные из ковалентно связанных друг с другом с помощью фосфодиэфирных связей *нуклеотидов*. Каждый нуклеотид состоит из трех компонентов: пуринового или пиримидинового основания, пятиуглеродного сахара и остатка фосфорной кислоты. В ДНК в основном встречаются нуклеотиды только четырех типов, различающиеся своими основаниями: пуриновые — дезоксиаденозин-5'-монофосфат (А), дезоксигуанозин-5'-монофосфат (Г) и пиримидиновые — дезокситимидин-5'-монофосфат (Т), дезоксицитидин-5'-монофосфат (Ц). В составе нуклеотидов встречаются минорные основания, например 5-метилцитозин, 5-оксиметилцитозин, 6-метиламинопурин и др.

Двойная спираль ДНК — вторичная двунитчатая стабилизированная структура ДНК. У большинства организмов (кроме некоторых бактериальных вирусов) молекулы ДНК двунитчатые и состоят из двух полинуклеотидных нитей (цепей), закрученных одна вокруг другой в спираль. Двойная спираль образуется и поддерживается благодаря способности оснований нуклеотидов образовывать пары с помощью слабых межмолекулярных связей. При этом А спаривается с Т, а Г — с Ц. Пары оснований АТ и ГЦ одинаковы по

размеру и форме, но различаются по прочности связей и общей молекулярной массе. ДНК, богатая ГЦ-парами, имеет большую температуру плавления и большую плавучую плотность при ультрацентрифугировании в градиенте плотности солей некоторых тяжелых металлов. На этой особенности основаны некоторые методы исследования состава оснований ДНК, широко применяющиеся для целей *геносистематики* организмов [Белозерский, Антонов, 1972]. Благодаря способности А спариваться только с Т, а Г — только с Ц осуществляется принцип комплементарности (взаимодополняемости) нитей ДНК, когда какое-либо определенное чередование оснований на одной нити двойной спирали определяет чередование оснований на другой нити. Таким образом, нуклеотиды в каждой из нитей связаны прочными ковалентными связями, а между нитями — более слабыми взаимодействиями.

Денатурация ДНК — расхождение нитей, образующих двойную спираль, в растворе под действием температуры, кислоты или щелочи. Денатурация ДНК кислотой в экспериментах обычно не применяется из-за разрушения пуриновых оснований при низких значениях рН. Денатурацию регистрируют или по повышению поглощения раствора ДНК в ультрафиолетовой области спектра (так называемый гиперхромный эффект), или по потере сродства ДНК к особому сорбенту, гидроксиапатиту (ГАП), который в определенных условиях связывает только двунитчатую ДНК.

Температура плавления (ДНК) (т. пл.) — температура, при которой расходятся (денатурируют) 50% двунитчатых молекул.

Реассоциация (ренатурация) ДНК — восстановление в определенных условиях двунитчатой структуры ДНК после денатурации. Реассоциация может быть неполной, если реассоциирующие нити не полностью комплементарны. В этом случае реассоциировавшая ДНК содержит как хорошо спаренные участки (дуплексы), так и некоторое количество неспаренных «петель» и «хвостов». Температура плавления такой ДНК будет ниже, чем исходной, пропорционально количеству неспаренных участков. Показано, что понижение т.пл. на 1°C соответствует наличию от 1% [Bonner et al., 1973] до 1,5% [Laird et al., 1969] неспаренных оснований. Реассоциация ДНК — реакция второго порядка, скорость реакции зависит от концентрации комплементарных нитей, температуры, солевой концентрации, состава оснований, сложности (разнообразия) последовательностей ДНК. Если комплементарные участки находятся на одной и той же нити

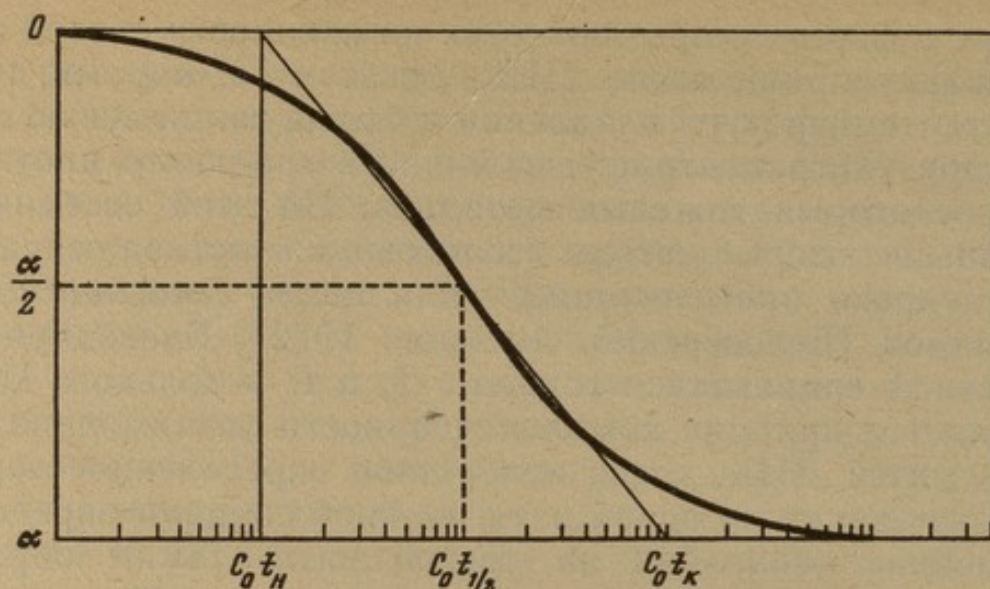


Рис. 1. Характеристика идеальной кинетики второго порядка

По оси абсцисс отложена в логарифмической шкале величина C_0t — произведение начальной концентрации ДНК (в молях на литр) на время реассоциации (в сек.). По оси ординат отложена доля прореассоциировавшего материала (α). Пересечение оси абсцисс касательной к кинетической кривой в начальной и конечной точках обозначено соответственно C_0t_N и C_0t_K . В случае гомогенности препарата ДНК по частоте повторяемости (т. е. по скорости реассоциации) отношение C_0t_K/C_0t_N равно 100

ДНК (обращенные повторы, или палиндромы), то скорость реассоциации от концентрации ДНК не зависит. Кривая, изображающая уменьшение со временем концентрации однитчатой ДНК (или увеличение концентрации двунитчатой), называется *кинетической кривой* или, чаще, просто *кинетикой реассоциации ДНК*. Идеальная кинетика второго порядка показана на рис. 1. Такая кривая очень близка к кривой кинетики реассоциации ДНК прокариот, органелл клеток эукариот. Кинетика реассоциации ДНК эукариот, содержащей повторы, представляет собой значительно более сложную картину.

Фрагментирование ДНК — уменьшение размеров молекул ДНК под действием некоторых реагентов, ферментов или гидродинамических воздействий, например обработки раствора ДНК ультразвуком.

Сложность последовательностей — общая длина различных последовательностей ДНК, измеренная в нуклеотидных парах. Аналитическая сложность — величина, определяемая химическими (цитохимическими) методами и соответствующая понятию «размер генома». Кинетическая сложность — величина, определяемая измерением скорости реассоциации ДНК.

Повторяющиеся последовательности ДНК, или *повторы* — многочисленные копии какого-либо участка, разбросанные по ДНК или сгруппированные в определенных местах ДНК. Повторы составляют существенную часть ДНК эукариот и пренебрежительно малую часть ДНК прокариот.

Ген — участок молекулы ДНК, характеризующийся специфической для него последовательностью нуклеотидов, представляющий собой единицу функции, отличной от функции других генов [по Гершензону, 1979].

Геном — совокупность нуклеотидных последовательностей ДНК, содержащихся в хромосомах данного организма. На надмолекулярном уровне геном представляет собой совокупность хромосом в ядре (более старое определение генома). У большинства эукариот общее количество ДНК, заключенное в генах, составляет лишь небольшую часть генома (около 1—3% для млекопитающих). Остальная часть ДНК генома представлена последовательностями с пока неизвестной функцией и носит название избыточной, эгоистичной или ненужной ДНК (ДНК-мусор, или junk DNA).

Размер генома — общее содержание ДНК в геноме. В зависимости от ploидности хромосом обозначается С или 1С для гаплоидного, 2С для диплоидного, 3С для триплоидного и т. д. набора хромосом и измеряется в дальтонах, парах нуклеотидов, пикограммах ($1 \text{ пг} = 10^{-9} \text{ мг} = 10^{-12} \text{ г} = 0,6 \cdot 10^{12} \text{ дальтон} = 0,9 \cdot 10^9 \text{ пар нуклеотидов, п.н.}$).

Классы нуклеотидных последовательностей — набор последовательностей с одинаковой частотой повторяемости (т. е. с одинаковым числом копий в геноме). На кривой кинетики реассоциации ДНК классы выявляются в виде кинетических *фракций*. В состав класса может входить одно или множество семейств, различающихся по первичной структуре (последовательности нуклеотидов), но сходных по числу копий этих последовательностей в геноме. Наименование класса может быть двояким. С одной стороны, их различают по частоте повторяемости, тогда говорят, например, об уникальных (неповторяющихся), промежуточных и высокоповторяющихся последовательностях, классах, фракциях. С другой стороны, их именуют по скорости реассоциации и говорят об очень быстро реассоциирующих, промежуточных и медленно реассоциирующих последовательностях, классах, фракциях. Количество же используемых разными авторами названий определяется количеством выявленных классов последовательностей. В данной работе мы будем придерживаться чаще обозначения фракций согласно их скорости

реассоциации. Кроме того, чтобы избежать путаницы, мы во всех случаях будем придерживаться термина «фракция», тогда как класс будет оставлен для обозначения таксономической единицы.

В обычных условиях реассоциации очень быстрая фракция включает как высокоповторяющиеся последовательности, так и особый класс последовательностей — *обращенные повторы* (инвертированные повторы, палиндромы). Высокоповторяющиеся последовательности могут отличаться от остальной ДНК при ультрацентрифугировании в виде минорной полосы или пика, поэтому другое название этой ДНК — *сателлитная* или правильнее *сателлитоподобная* ДНК. Промежуточные повторы могут быть представлены двумя или несколькими фракциями. Так, у большинства птиц и рептилий выявляется только одна фракция с повторяемостью 300—3000, а у млекопитающих и некоторых других групп организмов — фракция с повторяемостью 100—1000 и фракция с повторяемостью 10—100 тыс. (см. соответствующие главы). Медленная фракция обычно содержит уникальные последовательности и иногда небольшое количество малоповторяющихся последовательностей.

Структура генома — совокупность фракций нуклеотидных последовательностей в геноме данного организма; характеризуется числом фракций, частотой повторяемости входящих в них последовательностей, относительным содержанием (долей) каждой фракции в геноме.

Организация генома — взаимное расположение и протяженность последовательностей с разной частотой повторяемости вдоль цепи ДНК. Последовательности каждой фракции могут быть сблочены или рассеяны среди последовательностей других фракций. Организация генома характеризуется: долей генома, занятой сблоченными последовательностями, долей генома, занятой рассеянными последовательностями, протяженностью тех и других последовательностей. Если последовательности одной фракции рассредоточены среди последовательностей другой фракции, т. е. чередуются с ними, то расстояние между однотипными последовательностями называется *периодом чередования*. В зарубежной литературе для обозначения чередования (перемежания) последовательностей редко применяется слово *alternation* (чередование), чаще используется термин *interspersion* (вкладывание чего-либо в промежутки, разбрасывание, перемешивание и т. д.). Поскольку последний термин трудно перевести на русский язык одним словом, мы оставляем его без перевода и наряду с терминами «чередование», «пере-

межание» будем применять термин «интерсперсия», в зависимости от контекста. Иногда термин «организация генома» употребляется вместо термина «структура генома», и наоборот. Мы для ясности изложения будем придерживаться вышеприведенных определений и будем считать, что понятие «организация генома» является более широким и включает понятие «структура генома».

Методы исследования

Кинетика реассоциации ДНК. Процесс реассоциации подробно изучался со времен открытия его в 60-х годах, и наиболее фундаментальные работы были опубликованы в конце 60-х и в течение 70-х годов [Britten, Köhne, 1968; Wetmur, Davidson, 1968; Britten et al., 1974; Bonner et al., 1973; Hutton, Wetmur, 1973; Smith et al., 1975; Britten, Davidson, 1976a; Гаврилов, Мазо, 1977; Мазо, 1978; Гольцов и др., 1979]. Опубликован ряд обзорных работ, посвященных методам изучения кинетики реассоциации ДНК [Britten et al., 1974], в том числе на русском языке [Петров, 1980]. Поэтому мы здесь изложим процесс реассоциации и методы исследования его лишь в объеме, позволяющем понять излагаемый далее материал.

Кинетика реассоциации характеризуется константой скорости второго порядка K_2 , которая имеет размерность л/моль · сек. Зависимость между глубиной происходящей реакции и константой скорости реассоциации выражается уравнением реакции второго порядка

$$C_t/C_0 = 1/1 + K_2(C_0 t), \quad (1)$$

где C_0 и C_t — концентрации однонитчатой ДНК соответственно в начальный (нулевой) момент и в момент времени t . Когда половина ДНК прореассоциировала, то $C_t/C_0 = 1/2$, т. е. $1/2 = 1/1 + K_2(C_0 t)$, и уравнение (1) приводится к виду

$$K_2(C_0 t) = 1, \quad (2)$$

откуда следует, что константа скорости реассоциации обратно пропорциональна величине $C_0 t$ при завершаемой на 50% реакции, т. е. величина $C_0 t_{1/2}$.

Графически кинетику реассоциации описывают в системе координат, где по оси ординат отложена доля реассоциировавших молекул ДНК, а по оси абсцисс — параметр $C_0 t$. При таком изображении кривая кинетики реассоциации ДНК вирусов и бактерий описывается уравнением кинетики второго порядка (см. рис. 1). Кривая имеет точку перегиба, соответ-

ствующую времени прохождения половины реакции (значение $C_0 t_{1/2}$). Касательная, проведенная к кривой в точке перегиба, пересекает линии начала и конца реакции при соответствующих значениях $C_0 t$, отношение между которыми равно 10^2 . Если это отношение больше 10^2 , то такое отклонение кинетической кривой от идеальной указывает на гетерогенность последовательностей, среди которых имеются последовательности, реагирующие быстрее других.

В отличие от прокариот у высших организмов кривая кинетики реассоциации ДНК гораздо сложнее вследствие наложения нескольких кинетических компонентов, каждый из которых реассоциирует согласно кинетике реакции второго порядка, но с разной скоростью. Различия в скорости реассоциации в большинстве случаев обусловлены различиями в числе копий этих последовательностей в геноме. Если последовательности одного компонента имеют, например, 10^6 копий в геноме, другого компонента — 10^2 , то, следовательно, концентрация последовательностей первого компонента в 10 тыс. раз больше и они прореагируют значительно быстрее. Теоретически значение $C_0 t_{1/2}$ повторяющегося кинетического компонента обратно пропорционально числу копий последовательностей этого компонента в геноме, другими словами, их частоте повторяемости. Поэтому для нахождения частоты повторяемости, характерной для какого-либо компонента, достаточно найти отношение между $C_0 t_{1/2}$ компонента, содержащего неповторяющиеся (уникальные) последовательности, и $C_0 t_{1/2}$ данного компонента [Straus, 1976].

Кинетическая кривая для высших организмов, являющаяся в большинстве случаев суммой кинетических кривых индивидуальных компонентов, с определенной точностью может быть описана следующим уравнением [Britten et al., 1974; Gage, 1974; Pearson et al., 1977; Murphy et al., 1979]:

$$F = U + \sum_{i=1}^m f_i (1 + k_i C_0 t)^{-1}, \quad (3)$$

где $F = C_t / C_0$ — доля прореассоциированных молекул (глубина реакции); f_i — доля i -го компонента в геноме; k_i — константа i -го компонента; U — доля анализируемого препарата ДНК, которая даже после продолжительного времени реассоциации проявляет себя как непрореассоциировавший материал; m — номер компонента.

Получая в эксперименте данные реассоциации ДНК в отдельные моменты времени, т. е. попросту экспериментальные точки при некоторых значениях $C_0 t$, часто трудно с уве-

ренностью сказать о числе и параметрах $C_0 t_{1/2}$ и f кинетических компонентов; иногда вызывает определенные трудности также и проведение тотальной кинетической кривой.

Для того чтобы избежать элемента субъективизма экспериментатора или, во всяком случае, для уменьшения его влияния, наилучшее соответствие полученных экспериментальных точек теоретической кривой, рассчитанной на основании предполагаемых параметров кинетических компонентов, рекомендуется оценивать по методу наименьших квадратов [Britten et al., 1974]. Наилучшее среднеквадратичное приближение значений F к экспериментальным данным обеспечивается при минимуме выражения.

$$\sum_{i=1}^n (F_i \text{ набл.} - F_i \text{ ожид.})^2 \quad (4)$$

или при минимальном значении среднеквадратичной ошибки:

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (F_i \text{ набл.} - F_i \text{ ожид.})^2}{n}}, \quad (5)$$

где F_i набл. и F_i ожид. — наблюдаемая в эксперименте и теоретически ожидаемая из уравнения (3) глубина прохождения реакции реассоциации в i -й точке; n — число экспериментальных точек. Если полученное значение умножить на 100, то ошибка будет исчисляться в процентах. Наилучшее среднеквадратичное приближение и ошибку вычисляют с помощью специально разработанных программ на ЭВМ [Britten et al., 1974; Pearson et al., 1977; Murphy et al., 1979].

Скорость реассоциации зависит, кроме концентрации комплементарных нитей ДНК, от многих факторов, таких, как ионная сила раствора, длина фрагментов ДНК, температура и вязкость раствора, состав оснований ДНК [Wetmur, Davidson, 1968; Britten et al., 1974; Петров, 1980].

Кинетику реассоциации ДНК регистрируют в основном двумя методами — спектрофотометрическим и хроматографическим [Britten et al., 1974]. Первый метод основан на неодинаковом поглощении в ультрафиолетовых лучах растворов денатурированной и нативной ДНК. Степень реассоциации определяют по уменьшению поглощения раствора в процессе реассоциации ДНК после денатурации (гипохромизм) с помощью спектрофотометра с термостатированной кюветой. Второй метод основан на разном сродстве к одонитчатым и двунитчатым фрагментам ДНК особого сорбента — гидро-

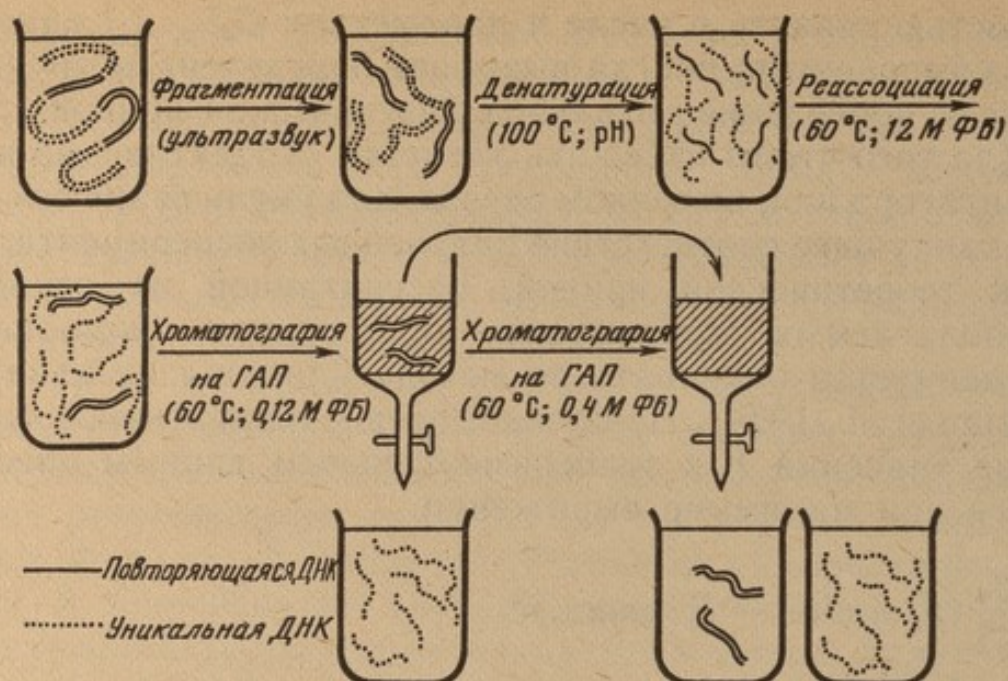


Рис. 2. Схематическое изображение эксперимента по реассоциации ДНК с использованием хроматографии на колонке с гидроксипатитом (ГАП)

Исходную высокополимерную ДНК деградируют на фрагменты малой величины ультразвуком или другим способом, денатурируют теплом или щелочью и инкубируют при температуре на 25°C ниже температуры плавления. Через выбранный промежуток времени часть фрагментов (повторы) реассоциируют, другая часть остается однонитевой (уникальные последовательности). Для разделения двунитчатых и однонитчатых фрагментов раствор ДНК пропускают через колонку с ГАП. При элюции слабой концентрацией фосфатного буфера (0,12 М ФБ) из колонки элюируются однонитчатые фрагменты, а при большей концентрации (0,3—0,5 М ФБ) элюируются двунитчатые фрагменты; температура элюции в обоих случаях равна температуре инкубации, обычно 60°C . Зная количество тех и других фрагментов, легко определить долю прореассоциировавших фрагментов

ксиапатита (ГАП) (рис. 2). ДНК денатурируют нагреванием до температуры, близкой к 100°C , охлаждают до температуры, равной (т. пл. -25°C), инкубируют до какого-либо значения C_0t и образец хроматографируют на термостатированной колонке с ГАП. Сродство ГАП к ДНК зависит от концентрации анионов PO_4^{3-} . При низких концентрациях фосфатного буфера (0,01—0,03 М ФБ, pH 6,8) ГАП связывает как одно-, так и двунитчатые молекулы ДНК. В промежуточных концентрациях буфера (0,12—0,14 М ФБ, pH 6,8) с ГАП связывается только двунитчатая ДНК, которую можно элюировать более концентрированным фосфатным буфером (0,4—0,5 М ФБ, pH 6,8). При стандартных условиях (60°C , 0,12 М ФБ) с ГАП связываются все фрагменты ДНК, дуплексный участок у которых превышает 30—50 пар нуклеотидов (п. н.) [Wilson, Thomas, 1973].

На этом свойстве ГАП базируется один из самых простых и наглядных способов исследования организации нуклеотид-

ных последовательностей разной степени повторяемости в геноме, разработанный группой Бриттена—Дэвидсона [Britten, Smith, 1970; Davidson et al., 1973; Goldberg et al., 1975]. Для того чтобы наиболее точно охарактеризовать молекулярную структуру генома, т. е. наличие в геноме компонентов, различающихся по скорости реассоциации, частоту повторяемости последовательностей, принадлежащих к этим компонентам, относительное содержание их в геноме, используют в реассоциации по возможности более короткие фрагменты ДНК, обычно 200—400 п. н. При этой длине фрагментов достаточно высока вероятность того, что каждый фрагмент содержит в среднем только одну какую-либо определенную последовательность и вследствие этого последовательности каждого компонента реагируют практически независимо, выявляясь на кинетической кривой в виде отдельных фракций. На кривой кинетики реассоциации длинных фрагментов ДНК (более 1—2 т. п. н.) доля одной фракции может увеличиваться, а доля другой уменьшаться, что будет свидетельствовать о соседстве на ДНК последовательностей этих фракций (компонентов). Подоб-

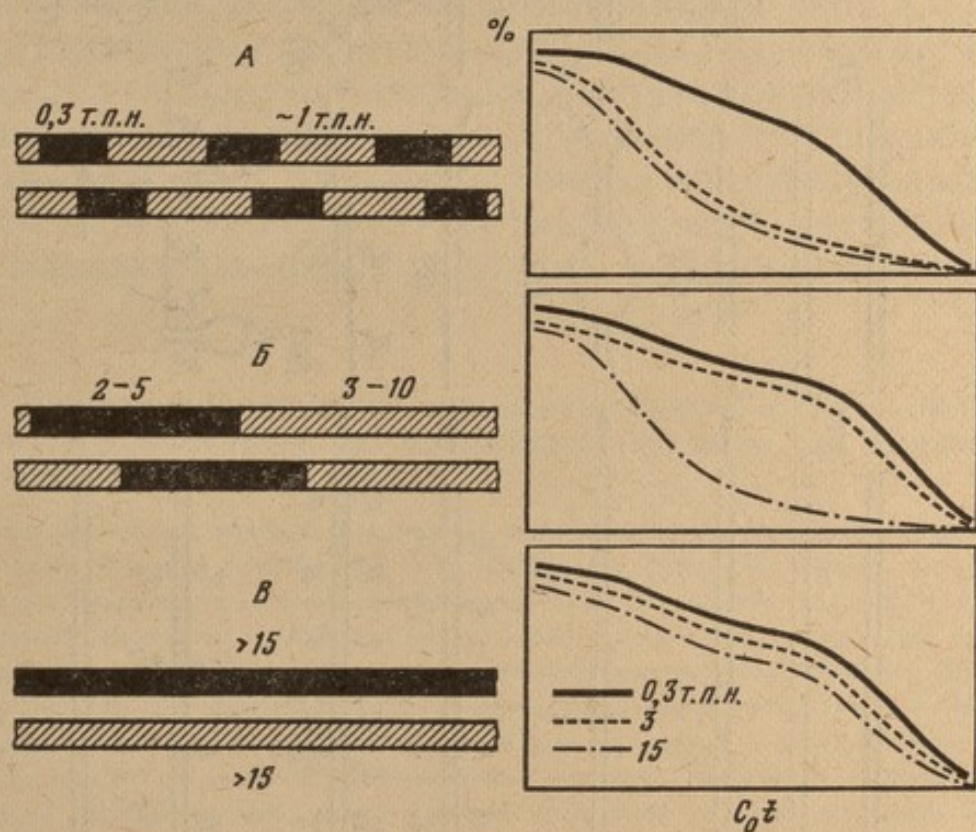
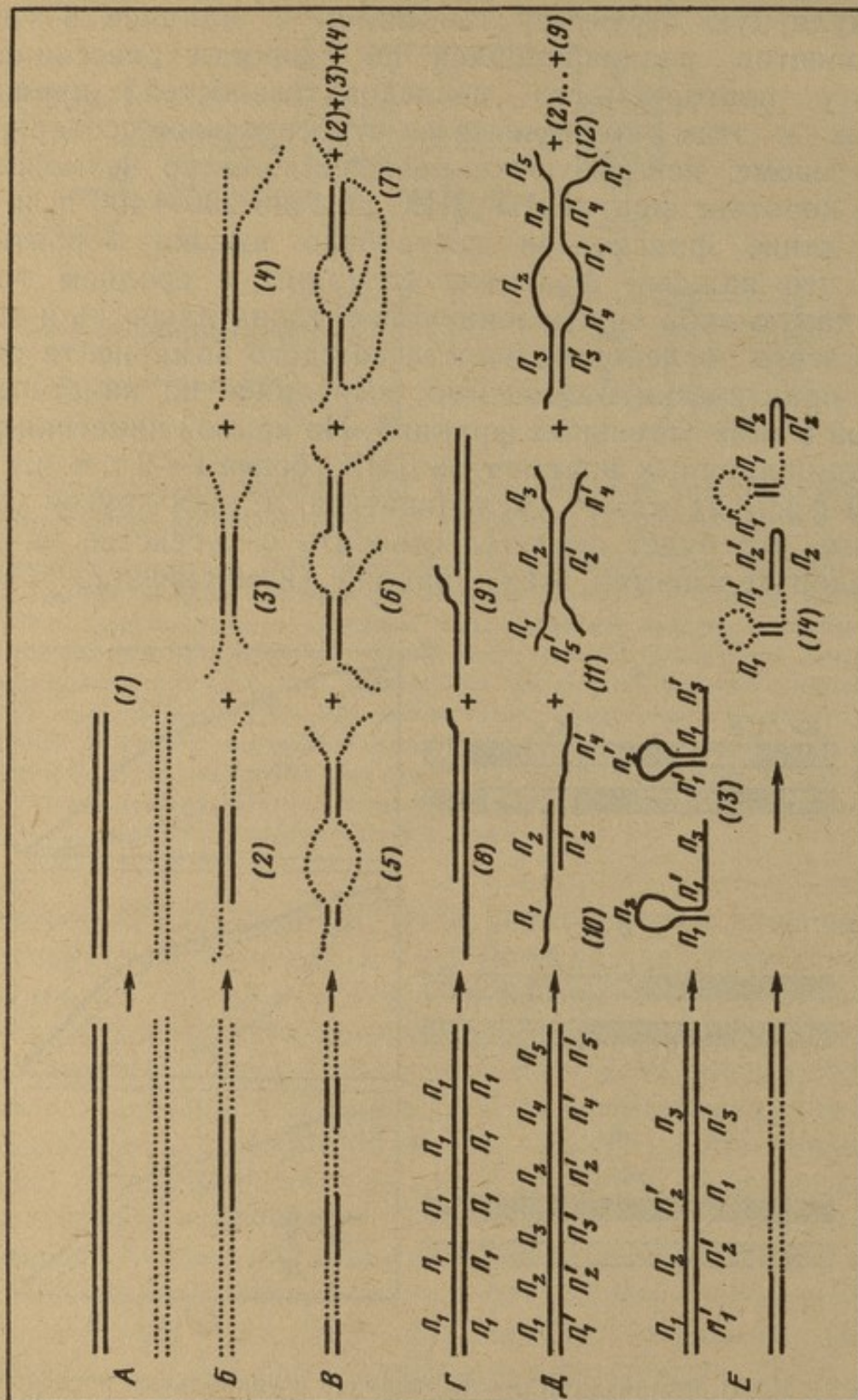


Рис. 3. Способы организации повторяющихся и уникальных последовательностей в геноме и соответствующий им профиль кривых кинетики реассоциации фрагментов ДНК разной длины

Для простоты не учтено влияние длины фрагментов на скорость реассоциации и не соблюден масштаб



ную картину можно получить, лишь применяя гидроксипатитовый метод регистрации кинетики (рис. 3). Если длинный фрагмент содержит одновременно последовательности с разной частотой повторяемости, а следовательно, и с разной скоростью реассоциации, то этот фрагмент свяжется с ГАП при хроматографии, как только произойдет реассоциация самого быстрого компонента. А поскольку этим методом регистрируют не количество нуклеотидов в спаренных участках, а количество их в связавшихся с ГАП фрагментах, т. е. во фрагментах, содержащих спаренные участки, то при соседстве на длинных фрагментах последовательностей, принадлежащих к разным фракциям, на кинетической кривой более повторенная фракция будет увеличиваться с увеличением длины фрагментов, а менее повторенная будет при этом уменьшаться.

На рис. 4 показаны варианты организации нуклеотидных последовательностей эукариот и продукты реассоциации фрагментов ДНК, содержащих эти последовательности. При организации ДНК по типу *Б*, *В*, *Д* и *Е* продукты реассоциации содержат короткие дуплексы, окруженные неспаренными петлями и хвостами. В случае же организации по типу *А* и *Г* дуплексы будут преимущественно длинными. Исследуя организацию генома шпорцевой лягушки *Xenopus laevis*, нескольких беспозвоночных, относящихся к разным таксономическим группам, Бриттен и Дэвидсон с соавторами обнаружили, что все эти виды содержат в геноме значительную часть уникальных последовательностей, регулярно чередующихся с повто-

Рис. 4. Варианты организации последовательностей ДНК и ожидаемые продукты их реассоциации до определенного значения C_0t , соответствующего реассоциации только повторов

А — длинные повторы и длинные уникальные последовательности, не примыкающие друг к другу на достаточно большом участке ДНК. Повторяющиеся (сплошные линии) и уникальные (пунктир) последовательности реассоциируют независимо. Образуются структуры (1); *Б* — короткие повторы чередуются с длинными уникальными последовательностями. При реассоциации образуются короткие дуплексы с очень длинными односторонними хвостами. Образуются структуры (2) — (4); *В* — короткие повторы, чередующиеся с короткими уникальными последовательностями. При реассоциации образуются структуры (2) — (7); *Г* — длинные повторяющиеся участки, состоящие из tandemно расположенных коротких одинаковых субповторов. При реассоциации образуются чаще всего длинные дуплексные участки, структуры (8) — (9); *Д* — длинные повторяющиеся последовательности, состоящие из tandemно расположенных коротких субповторов, принадлежащих к разным по последовательности оснований семействам, но с одинаковой частотой повторяемости, так называемые перемутированные (перемешанные) повторы. Продуктами их реассоциации могут быть любые структуры от (2) до (12); *Е* — участок ДНК, содержащий комплементарные последовательности на каждой нити — обращенные повторы или палиндромы. При реассоциации каждой нити образуются шпилькообразные структуры с петлями или без них, структуры (13) и (14)

рами с коротким (менее 2 т. п. н.) периодом [Davidson et al., 1973, 1975; Goldberg et al., 1975]. Это позволило авторам заявить об универсальности среди эукариот открытого ими типа организации генома, названного «Хепорус-тип». Не прошло и года как в геноме дрозофилы был открыт другой тип организации последовательностей, характеризующейся в 10—15 раз большим периодом чередования [Manning et al., 1975, названный «Drosophila-типом». На рис. 3, А схематически показана организация генома по «Хепорус-типу» и как такая организация выявляется на кривых кинетики реассоциации ДНК разной длины. На рис. 3, Б то же самое показано для генома, полностью организованного по «Drosophila-типу». Наконец, в геноме *Achlya bisexualis* [Hudspeth et al., 1977] и альбатроса *Diomedea erophorhoga* [Гинатулин, Гинатулина, 1979а] большая часть ДНК (более 80%) содержит сверхдлинные повторяющиеся и уникальные последовательности, не чередующиеся между собой на протяжении десятков т. п. н. (рис. 3, В). Различие между организацией генома ахлии и альбатроса заключается в том, что повторы у ахлии действительно длинные, как показано на рис. 4, А, а у альбатроса — пермутированные (рис. 4, Д). К настоящему времени выяснено, что геномы эукариот не ограничиваются этими тремя типами и что существует целый спектр промежуточных способов организации (см. главу 7).

Использование нуклеаз. Здесь кратко рассмотрим применение двух типов нуклеаз — специфичной к одонитевым участкам ДНК S_1 -нуклеазы и сайт-специфичных рестрикционных эндонуклеаз.

В работах по изучению молекулярной организации генома S_1 -нуклеаза применяется для определения протяженности повторяющихся последовательностей ДНК. S_1 -нуклеаза была выделена из *Aspergillus oryzae* [Ando, 1966] и детально охарактеризована разными авторами [Sutton, 1971; Vogt, 1973; Britten et al., 1976]. В нашей лаборатории использовались методические приемы и модификации, предложенные Бриттеном с сотрудниками [Britten et al., 1976] специально для определения длины повторяющихся последовательностей ДНК. В соответствии с определенной активностью нуклеазы в последующих опытах можно подбирать ее количество в зависимости от требуемой глубины реакции (переваривания), т. е. в зависимости от величины DIG., вычисляемой согласно формуле Бриттена и соавторов [Britten et al., 1976]:
$$DIG. = 1 \left(1 + \frac{\text{мкл} \cdot \text{мин}}{\text{мг} \cdot N_{1/2}} \right)^{-1}, \text{ где}$$

мкл — количество нуклеазы в микролитрах раствора фермента, мин — время инкубации в минутах, мг — количество ДНК в растворе в миллиграммах и $N_{1/2}$ — активность нуклеазы, выраженная в специальных единицах.

Обычно мы инкубировали ДНК с нуклеазой в течение 45 мин, уменьшая соответственно количество добавляемой нуклеазы. Для определения размера повторяющихся участков ДНК длинные фрагменты денатурировали, реассоциировали до C_0t 50—100, при котором реагируют практически все повторы и лишь незначительная часть уникальных последовательностей, и обрабатывали S_1 -нуклеазой ($DIG. = 0,66 — 0,95$). Устойчивые к действию фермента спаренные участки (дуплексы), представляющие собой повторяющиеся последовательности, отделяли от продуктов деградации на колонке с ГАП. Дуплексы элюировали 0,4 М фосфатным буфером и наносили на колонку с агарозным гелем Biogel A-15 m (Bio Rad Labs, США) [Britten et al., 1974, 1976]. Элюцию вели 0,12 М фосфатным буфером. Для гель-фильтрации использовали колонку размером $1,7 \times 50$ см, модифицированную нами для скоростной хроматографии [Гинатулин, Гинатулина, 1982].

Другим способом определения длины является электрофорез в агарозном теле в щелочной или нейтральной среде. Методы электрофореза подробно изложены в работе Л. А. Остермана [1981]. В качестве маркеров применяют фрагменты точно известной длины, полученные перевариванием ДНК, например фага лямбда рестрикционными эндонуклеазами.

Весьма перспективным подходом для определения взаиморасположения различных последовательностей на физической и генетической картах ДНК, а также для расшифровки последовательности нуклеотидов является использование рестрикционных нуклеаз (рестриктаз). Большинство рестриктаз расщепляют ДНК в месте узнаваемой ими специфической последовательности (обладают сайт-специфичностью). Продукты расщепления подвергают электрофорезу в агарозном или полиакриламидном геле. На электрофореграммах положение фрагментов зависит от их молекулярной массы, или, что то же самое, от их длины. Для обнаружения ДНК гели окрашивают чаще всего бромистым этидием и фотографируют в проходящем или отраженном ультрафиолетовом излучении. Взаиморасположение рестрикционных фрагментов ДНК, разделенных в геле, устанавливается с помощью различных рестриктаз, за точку отсчета принимается сайт расщепления ДНК рестриктазой EcoRI. Первые работы по расщеплению и картированию сателлитных ДНК

млекопитающих появились в 1974—1975 гг. [Philippsen et al., 1974; Biro et al., 1975; Cooke, 1975; Southern, 1975]. Позже количество работ по исследованию генома эукариот с применением рестриктаз значительно возросло, и к настоящему времени такие работы практически вытеснили работы с применением других методов.

Определение размера генома. В первых работах, посвященных определению размера генома, использовали химические методы анализа содержания ДНК в изолированных ядрах [Mirsky, Ris, 1949, 1951; Vendrely, Vendrely, 1949]. Подробно эти методы описаны в монографии Г. Д. Бердышева и Н. А. Проценко [1978]. Однако наибольший вклад в измерения содержания ДНК у позвоночных внесли работы Р. Хайнгарднера, К. Бахманна, С. Оно и Е. Олмо, использовавших цитофотометрические и цитофлуорометрические методы анализа.

Хайнгарднер применял флуорометрический метод анализа [Hinegardner 1968, 1971, 1976; Hinegardner, Rosen, 1972]. Клетки, выделенные из крови или спермы животных, фиксировали в буфере, содержащем формалин, гидролизировали в горячей соляной кислоте и одновременно окрашивали диаминобензойной кислотой. Интенсивность флуоресценции определялась с помощью флуорометра. В качестве стандарта автор использовал препарат сперматозоидов морского ежа.

Большинство других авторов применяли метод микроденситометрии окрашенных по Фельгену ядер клеток различных тканей, чаще всего печени [Atkin et al., 1965; Ohno, Atkin, 1966; Bachmann, 1972; Bachmann et al., 1972; Olmo, 1973, 1976; и др.]. Кусочки ткани помещали в фиксирующий раствор при комнатной температуре. Затем ткань вымачивали в растворе детергента и гомогенизировали. Из гомогената отделяли центрифугированием ядра, которые наносили на предметное стекло и подвергали гидролизу в HCl при 37—60 °C. После гидролиза препарат окрашивали специфичным для гидролизованной ДНК реактивом Шиффа (фуксин сернистая кислота). Интенсивность окрашивания определяли с помощью микроденситометра.

Некоторые авторы использовали кинетический метод определения размера генома. В своих первых работах Бриттен и Кон, а также Уэтмур и Дэвидсон отметили, что сложность последовательностей обратно пропорциональна константе скорости реассоциации (или прямо пропорциональна значению $C_0t_{1/2}$ реассоциации ДНК) [Britten, Kohne, 1968; Wetmur, Davidson, 1968]. Для прокариотического организма, геном которого почти полностью состоит из уникальных

последовательностей, кинетическую сложность (в данном случае размер всего генома) можно вычислить из соотношения

$$G_x / G_{\text{ст.}} = (C_0 t_{1/2})_x / (C_0 t_{1/2})_{\text{ст.}},$$

где G_x и $G_{\text{ст.}}$ — размеры геномов двух организмов — исследуемого и стандартного (т. е. организма с известным размером генома), а $(C_0 t_{1/2})_x$ и $(C_0 t_{1/2})_{\text{ст.}}$ — значения $C_0 t_{1/2}$ реассоциации их ДНК. Это соотношение верно для изолированной (чистой) фракции ДНК эукариотического организма, существенную часть которой составляют повторяющиеся последовательности. В качестве стандарта чаще всего применяют ДНК *E. coli*, фрагментированную до одинакового с фрагментами исследуемой ДНК размера. Для расчета размера генома эукариотического организма используют параметры чистой фракции уникальных последовательностей, делая поправку на содержание этой фракции в геноме:

$$G_x = \frac{G_{\text{ст.}} \cdot (C_0 t_{1/2} \text{ чист.})_x}{(C_0 t_{1/2})_{\text{ст.}} \cdot \alpha_x},$$

где α_x — доля уникальной фракции исследуемого организма [Laird, 1971; Straus, 1971; Куприянова, Тимофеева, 1973]. Между $C_0 t_{1/2}$ изолированной фракции и $C_0 t_{1/2}$ этой фракции, наблюдаемой на кривой кинетики реассоциации тотальной ДНК, существует следующее соотношение:

$$C_0 t_{1/2} \text{ чист.} = C_0 t_{1/2} \text{ набл.} \cdot \alpha.$$

Следовательно, величину генома можно вычислить и исходя из $C_0 t_{1/2}$ набл., не прибегая к препаративному выделению уникальной фракции:

$$G_x = \frac{G_{\text{ст.}} \cdot (C_0 t_{1/2} \text{ набл.})_x}{C_0 t_{1/2} \text{ ст.}}.$$

Однако это возможно лишь при условии достаточно точного определения параметров кинетики реассоциации тотальной ДНК (т. е. при достаточно большом содержании уникальных последовательностей в геноме).

Иногда размер генома рассчитывают исходя из размеров хромосом или размеров ядер. При этом отклонение от истинного значения размера генома достигает 30%, тогда как при применении оптических методов (флуорометрии и микроденситометрии) — 5—15% [Hinegardner, 1976b].

Изученность генома позвоночных

Позвоночные были и остаются излюбленной группой при изучении путей и закономерностей эволюционного развития и наиболее благодарным объектом для сравнительно-анатомических и эволюционно-морфологических исследований, а в новейшее время и для генетических, молекулярно-генетических и молекулярно-эволюционных исследований.

К середине 1982 г. более или менее детально изучена структура генома свыше 250 видов высших организмов. Значительную часть из них составляют позвоночные — более 130 видов (50%). В такой же приблизительно пропорции находятся и данные по исследованию организации генома: изучено около 90 видов эукариот и 55 из них — позвоночные (60%).

По-видимому, и по размерам генома позвоночные изучены лучше всех, хотя нам неизвестно точное число видов растений и беспозвоночных, изученных в этом отношении.

Внутри подтипа позвоночных охарактеризованные виды неравномерно распределяются по классам. Наиболее исследованными оказались представители класса млекопитающих. Их вклад в общую долю изученных позвоночных составляет: 20% — по размеру генома, 30% — по организации генома и 40% — по структуре генома. В то же время всего на млекопитающих приходится лишь 9% общего числа ныне живущих видов позвоночных (табл. 1). Точно так же неравномерно

Таблица 1. Общее число видов в типе хордовых и их представленность в исследованиях структуры, организации и размера генома

Класс	Число современных видов	Число видов, у которых изучены		
		структура генома	организация генома	размер генома
Низшие хордовые	1 120	3	1	3
Круглоротые	38—45	1	—	10
Хрящевые рыбы	550—620	3	3	45
Костистые рыбы	20 000	34	9	371
Амфибии	2 500	15	6	289
Рептилии	6 300	12	11	108
Птицы	8 600	12	10	31
Млекопитающие	4 000	52	16	202
Всего	43 000	132	56	1 059

изучены виды внутри более низких таксонов позвоночных — в отрядах, семействах, родах.

Причина такой неравномерности распределения изученных видов заключается прежде всего в молодости самой науки, изучающей геном, — молекулярной генетики, и поэтому нет возможности охватить исследованиями большее число видов. В связи с этим оказалось, что, во-первых, многие виды позвоночных были исследованы просто как наиболее доступные лабораторные животные или как виды, имеющие важное хозяйственное значение. Обычно эти виды хорошо изучены с морфологической, кариологической, биохимической и с множества других сторон, знание которых помогает понять структуру, взаимосвязь и назначение тех или иных элементов и систем генетического аппарата клеток. Поэтому наиболее детально изученными видами являются лягушка ксенопус, лабораторные линии грызунов — мышь, крыса, китайский хомячок, а также лососевые рыбы, домашние птицы. Во-вторых, в молекулярной генетике, как и во всякой другой новой области исследований, особое место занимают работы по изучению близкородственных видов. В этом случае результаты, полученные на молекулярном уровне, можно всегда соотнести с известными аспектами фенотипической дивергенции видов, что уже само по себе важно ввиду отсутствия функциональной теории видообразования. Поэтому любой новый метод изучения генома, кроме лабораторных животных, традиционно применяется для исследования таких групп, как, например, грызуны *Apodemus* [Hennig, Walker, 1970; Cooke, 1975], *Dipodomys* [Mazrimas, Hatch, 1972; Hatch et al., 1976], *Citellus* [Ginatulina et al., 1982] и хомяки [Гинатулина, 1982], приматы [Jones 1976; Deininger, Schmid, 1976, 1979; Donehower, Gillespie, 1979; Houck et al., 1979; Maio et al., 1979; Musich et al., 1980] и некоторые другие.

Аналогичная картина наблюдается и в других группах эукариот. Так, из беспозвоночных структура генома охарактеризована приблизительно у 80 видов, организация генома — у 30 видов, при этом на такие классические биологические объекты, как иглокожие, приходится 15 (структура генома) и 30% (организация генома) видов, тогда как общее число видов иглокожих составляет лишь 1% всех беспозвоночных, даже если не учитывать такую большую группу, как членистоногие (с учетом которых эта величина падает до 0,25%).

У растений (вместе с грибами) структура генома изучена также для 80 видов, среди них покрытосеменные занимают 80% (однодольные — 50%, двудольные — 30%); организация генома исследована у 24 видов, из них на долю покрытосеменных приходится 65%.

Малое число изученных видов и неравномерность их распределения по отдельным таксономическим группам (см. табл. 1) не позволяют пока установить закономерности эволюционного преобразования генома. В то же время этих данных уже достаточно, на наш взгляд, чтобы попытаться сделать некоторые обобщения и выводы как в структурно-функциональном, так и в эволюционном аспекте, чему и будут посвящены после подробного анализа позвоночных по классам последние главы монографии.

НИЗШИЕ ХОРДОВЫЕ И КРУГЛОРОТЫЕ

Тип хордовые Chordata включает три подтипа: оболочники Tunicata, бесчерепные Acrania и позвоночные Vertebrata. Первые два подтипа считаются дожившими до нашего времени примитивными хордовыми, уклонившимися от основной ветви, ведущей к позвоночным, и претерпевшими в разной степени регрессивную эволюцию. В этой главе мы рассмотрим имеющиеся очень скудные данные по исследованию генома низших хордовых, а также современных круглоротых — представителей наиболее древнего класса из ныне живущих позвоночных. Поскольку виды из этих реликтовых таксономических групп сохранились до нашего времени относительно мало измененными со времени их дивергенции от общих с позвоночными предков или (для круглоротых) от общих с челюстноротыми позвоночными предков, они привлекают внимание ученых, желающих узнать, какова была структура и организация генома у предковых форм, каков был предковый размер генома.

§ 1. Структура генома

Кинетика реассоциации коротких фрагментов ДНК асцидии *Ciona intestinalis* была получена дважды, сначала Ламбертом и Лэйрдом [Lambert, Laird, 1971], затем Шмидтке и соавторами [Schmidtke et al., 1979a]. Результаты, полученные разными группами исследователей, хорошо согласуются между собой. В геноме асцидии выявлена фракция повторов, содержащая последовательности, имеющие приблизительно 2 тыс. копий (около 30% генома), и уникальная фракция (60—70%) (табл. 2).

У ланцетника *Amphioxus* sp., кроме повторяющейся фракции с промежуточной скоростью реассоциации (частота повторяемости близка к 2000), имеется очень быстро реассоциирующая фракция, содержащая, по всей вероятности, обращенные повторы (рис. 5, табл. 2).

Как видно из рис. 5, кривые кинетики реассоциации ДНК и асцидии и ланцетника не доходят до 100%. Если считать, что в условиях эксперимента нереассоциирующий материал

Таблица 2. Структура генома низших хордовых и круглоротых

Вид	Частота повто- ряемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Подтип Оболочники Tunicata, класс Асцидии Ascidia			
Enterogona			
Cionidae			
Ciona intestinalis	ПП	0,30	Lambert, Laird, 1971
(циона)	1	0,70	
	1 800	0,32	Schmidtke et al., 1979a
	1	0,57	
Asciidiidae			
Phallusia mammillata	400	0,20	Weinblum et al., 1973
(асцидия)	9	0,30	
	1	0,50	
Подтип Бесчерепные Acrania, класс Головохордовые Cephalochordata			
Amphioxii			
Amphioxidae			
Amphioxus sp. (лан- цетник)	ОП	0,10	Schmidtke et al., 1979a
	1 000	0,08	
	1	0,69	
Подтип Позвоночные Vertebrata, класс Круглоротые Cyclostomata			
Petromyzoniformes			
Petromyzonidae			
Entosphenus tridentatus	ПП	0,60	Gharret et al., 1977
(минога)	1	0,40	

П р и м е ч а н и е. ОП — обращенные повторы, ПП — общее количество повторяющихся последовательностей.

не является особой фракцией ДНК, то данные, представленные в табл. 2, можно нормализовать к 100%-ному уровню реассоциации всей ДНК. Тогда оказывается, что доля повторов у ланцетника почти в 2 раза меньше, чем у асцидии (20 против 36%). Если же учесть, что размер генома асцидии почти в 3 раза меньше, чем у ланцетника [Atkin, Ohno, 1967], то абсолютное количество повторов у последнего окажется даже несколько больше, чем у асцидии [0,26 против 0,16 пг]. Вторым представителем изученных оболочников — *Phallusia mammillata* был изучен Уайнблумом и соавторами [Weinblum et al., 1973]. Авторы приводят только табличные

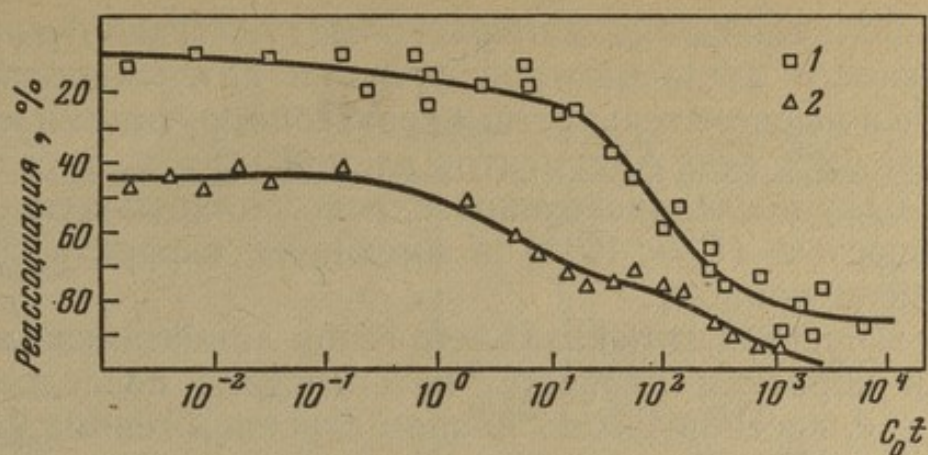


Рис. 5. Кривые кинетики реассоциации ДНК ланцетника *Amphioxus* sp. при длине фрагментов 0,25 (1) и 1,2 т. п. н. (2) (Schmidtke et al., 1979a)

данные, из которых видно, что доля повторов у этого вида составляет 50% всего генома. Следовательно, оба изученных оболочника характеризуются более высокой долей повторов в геноме, чем ланцетник.

Структура генома тихоокеанской миноги *Entosphenus tridentatus* изучалась с применением оптического метода регистрации кинетики реассоциации [Gharret et al., 1977]. Повторяющиеся последовательности составляют 60% генома (табл. 2). Из всех изученных позвоночных такое высокое содержание повторов найдено только у лососевых рыб и некоторых амфибий.

Суммируя эти очень немногочисленные данные, можно отметить, что доля повторяющихся последовательностей в геномах этих примитивных животных весьма ощутима — от 20 до 60%, а в целом структура генома в общих чертах сходна с таковой других, более продвинутых хордовых.

§ 2. Организация генома

Взаимное расположение и протяженность повторяющихся и уникальных последовательностей исследованы только для одного вида — ланцетника *Amphioxus* sp. [Schmidtke et al., 1979a]. На рис. 5 представлена кинетика реассоциации фрагментов ДНК разной длины — 0,25 и 1,2 т. п. н. Доля ДНК, связавшейся с ГАП при C_0t 10, увеличивается с увеличением длины фрагментов от 20% (короткие фрагменты) до 65% (длинные фрагменты). Отсюда следует, что длинные фрагменты содержат, кроме повторяющихся последовательностей, значительную часть примыкающих к ним уникальных последовательностей. Из характера изменения относитель-

ного содержания фракции на рис. 5 следует также, что последовательности очень быстрой фракции интенсивно перемежаются с последовательностями, реассоциирующими медленнее: около 50% всех фрагментов длиной 1,2 т. п. н. содержат хотя бы одну последовательность, реассоциирующую с большей скоростью ($C_0t < 10^{-3}$) и имеющую, скорее всего, палиндромную природу.

Этот эксперимент показал, что геном ланцетника характеризуется коротким периодом интерсперсии последовательностей, т. е. «ксенопусным» планом строения генома [Davidson et al., 1975]. В связи с тем что в геномах позвоночных обнаружены и короткий и длинный периоды интерсперсии последовательностей, авторы заключают, что найденная у ланцетника организация генома по короткопериодному «ксенопусному» типу является предковой для позвоночных, и предполагают, что длинные перемежающиеся последовательности возникли, например, у птиц в результате делеции коротких уникальных вставок из районов, содержащих повторы, или в результате делеции коротких повторов из районов сосредоточения уникальных последовательностей.

§ 3. Размер генома

Из исследованных к настоящему времени хордовых минимальный геном найден у оболочников, принадлежащих к классу асцидий, и составляет лишь 5—10% генома млекопитающих (табл. 3). По данным различных авторов, диплоидный размер генома асцидий равен 0,3—0,7 пг [Mirsky, Ris, 1951; Atkin, Ohno, 1967; Taylor, 1967; Laird, 1971]. Поскольку очень маленький геном обнаружен у всех изученных оболочников, Оно [1973] предположил, что близкие к оболочникам существа, жившие примерно 400 млн. лет назад, личинки которых явились прототипом позвоночных, также имели геном весьма малых размеров.

Исследуя современных ланцетников, можно составить некоторое представление относительно генома первых хордовых, возникших путем пedomорфоза (сохранение специфических личиночных признаков взрослыми формами). Измерения Аткина и Оно [Atkin, Ohno, 1967] показали, что геном ланцетника *Amphioxus lanceolatus* составляет менее 20% генома млекопитающих (1,2 пг).

Ниже будет показано, что наименьшие размеры генома среди позвоночных обнаружены у некоторых рыб, и в этих случаях величина генома почти такая же, как у ланцетника, или ненамного больше. Иными словами, минимальный размер

Таблица 3. Размеры генома низших хордовых и круглоротых

Вид	нг/2С	Автор, год
Ascidia		
Enterogona		
Cionidae		
<i>Ciona intestinalis</i>	0,35	Taylor, 1967
	0,42	Atkin, Ohno, 1967
	0,28	Laird, 1971
Asciidiidae		
<i>Ascidia atra</i>	0,32	Mirsky, Ris, 1951
Pleurogona		
Styelidae		
<i>Styela plicata</i>	0,70	Taylor, 1967
Cephalochordata		
Amphioxi		
Amphioxiidae		
<i>Amphioxus</i> sp.	1,2	Atkin, Ohno, 1967
Cyclostomata		
Petromyzoniformes		
Petromyzonidae		
<i>Petromyzon marinus</i>	3,2	Hinegardner, 1976a
	4,4	Robinson et al., 1975
	5,0	Mirsky, Ris, 1951
<i>Ichthyomyzon fossor</i>	2,8	Robinson et al., 1975
<i>I. gagei</i>	2,7	Те же
<i>I. bdellium</i>	3,0	»
<i>Lampetra lamottenii</i>	2,9	»
<i>L. planeri</i>	2,9	»
	2,8	Оно, 1973
<i>L. fluviatilis</i>	3,0	Robinson et al., 1975
Geotriidae		
<i>Geotria australia</i>	3,2	Те же
Mordaciidae		
<i>Mordacia mordax</i>	2,9	
Myxiniiformes		
Myxinidae		
<i>Eptatretus stoutii</i>	5,4	Atkin, 1966
	5,6	Hinegardner, 1976a
	5,6	Оно, 1973

геномов у многих видов рыб не слишком отличается от размера генома ланцетника. На этом основании Оно [1973] предположил, что превращение оболочникообразных существ путем пedomорфоза в ланцетникообразных, которое происходило либо в ордовике, либо в силуре, сопровождалось увеличением размеров генома в 2—3 раза, т. е. по отношению к геному плацентарных млекопитающих геном древних ланцетникообразных возрос с 5—6 до 20%.

Оно также считает, что вопрос о том, было ли это увеличение результатом tandemных дупликаций или некоторой комбинации tandemного дублирования и тетраплоидии, в настоящее время решить невозможно. Тем не менее Шмидтке и соавторы [Schmidtke et al., 1979a] предприняли попытку выяснить, было ли увеличение генома ланцетника результатом полиплоидии. Если Оно прав и ланцетникоподобный геном возник из оболочникоподобного генома путем полиплоидизации [Ohno, 1974] и если сегодняшнее строение генома отражает ситуацию, сложившуюся при возникновении хордовых, то геном ланцетника должен содержать двойное количество уникальных последовательностей по сравнению с геномом асцидии, тогда как экстра-ДНК, которая не может быть объяснена полиплоидизацией, должна состоять из повторов, добавленных к геному на более поздних стадиях его эволюции. Расчеты, сделанные на основании результатов исследования кинетики реассоциации ДНК, показали, что ланцетник содержит в 4 раза больше уникальных последовательностей, чем асцидия, тогда как размеры геномов отличаются в 3 раза. Следовательно, заключают авторы, часть ДНК добавлялась вне связи с актом полиплоидизации. Против гипотезы о полиплоидном происхождении ланцетникоподобных хордовых говорят также данные этих же авторов по изоферментному анализу. Далее мы покажем, что даже у очень близких видов одного рода содержание отдельных классов последовательностей может сильно отличаться, поэтому решать вопрос о полиплоидии сравнивая реассоционные характеристики ДНК филогенетически очень далеких видов, на наш взгляд, некорректно.

К настоящему времени, главным образом благодаря работе Робинсона и соавторов [Robinson et al., 1975], измерен размер генома 10 видов круглоротых из обоих отрядов — многообразных *Petromyzoniformes* (9 видов) и миксинообразных *Mixiniiformes* (1 вид), что составляет около четверти всех ныне живущих бесчелюстных позвоночных. Данные, полученные этими и некоторыми другими авторами, представлены в табл. 3. Робинсон с соавторами применяли микроденситометрический метод измерения ДНК в окрашенных по Фельгену клетках тканей миног. В качестве стандарта использовали клетки лимфоцитов человека. Данные этих авторов были представлены как процент от генома человека, а также в пикограммах, для расчетов использовалось уже устаревшее к настоящему времени значение размера генома человека — 6 пг [Vendrely, Vendrely, 1957]. В связи с тем что в этой книге делается попытка унифици

ровать данные разных авторов, значения размеров геномов были пересчитаны с учетом более точного определения размера генома человека, равного 7—7,3 пг [Atkin et al., 1965; Bachmann, 1972].

Миноги характеризуются низкой вариабельностью геномного размера (табл. 3): восемь из девяти видов имеют геном, равный 2,7—3,2 пг, и лишь один вид — атлантическая морская минога *Petromyzon marinus* — 4,4 пг. По данным же Хайнгарднера, и у этого вида геном равен 3,2 пг, но по Мирски и Рису — 5 пг (см. табл. 3). Интересно отметить, что все миноги северного полушария, а также южная *Geotria australis* содержат в кариотипе по 164—184 хромосомы ($2n$), миноги южного полушария семейства *Mordaciidae* — только 76 [Potter, Robinson, 1981]. Размеры же геномов всех этих видов, за исключением *P. marinus*, очень близки. Следовательно, у миног наблюдаются различия в размерах генома при схожести кариотипа (*P. marinus* по сравнению с другими *Petromyzonidae*) и различия в кариотипах при схожести размера генома (*Mordaciidae*, по сравнению с большинством других миног). Что же касается единственного изученного в этом отношении представителя миксин — *Eptatretus stoutii* (отряд *Mixiniformes*), то он имеет 48 средней величины хромосом и геном, почти равный геному млекопитающих, — 5,6 пг (80% генома человека).

Таким образом, рассматривая низших хордовых и круглоротых как наиболее древние ветви хордовых, мы можем проследить, как с усложнением организации увеличивается размер генома: у ланцетника — в 2—3 раза больше, чем у оболочников, у миног и миксин — в 2—4 раза больше, чем у ланцетника.

Структура же генома всех рассмотренных видов и организация генома ланцетника принципиально ничем не отличаются от других эукариот.

Надкласс Pisces включает два класса: хрящевые рыбы Chondrichthyes с двумя подклассами — цельноголовые Holocerphali и пластиножаберные Elasmobranchii — и костные рыбы, где выделяют обычно тоже два подкласса — лопастеперые Sarcopterigii (кистеперые, двоякодышащие) и лучеперые Actinopterygii (ганоидные и костистые).

§ 1. Структура генома

1. Хрящевые рыбы Chondrichthyes

Кинетика реассоциации коротких фрагментов ДНК (0,3 т. п. н.) получена лишь для трех видов: двух скатов и одной акулы [Olmo et al., 1980]. Все три вида характеризуются очень сходными кинетическими характеристиками ДНК. Уникальные последовательности составляют 38—45% (табл. 4). Повторяющиеся последовательности реассоциируют с образованием трех кинетических фракций: обращенных повторов (9% в геноме лучистого ската и 18—20% в геноме остальных видов), высокоповторяющихся последовательностей, содержащих 1—2 млн. копий (10—13%), и последовательностей, имеющих 10—20 тыс. копий (28—35%). Характерной чертой генома этих видов является отсутствие последовательностей с промежуточной частотой повторения (сотни копий). Нужно сказать, что кинетические характеристики авторами измерены недостаточно детально, без машинной обработки данных, поэтому истинные значения тех или иных параметров кинетики могут несколько отличаться от таковых, представленных авторами.

Значения $C_0t_{1/2}$ уникальной фракции ДНК этих видов очень близки между собой, и, следовательно, кинетическая сложность их генома практически одинакова. В то же время аналитическая сложность генома электрического ската в 2 раза больше [14 пг], чем лучистого ската (7 пг) (табл. 4). Авторы заключают из этого, что геном Torpedo возник путем полиплоидизации предкового генома, сходного с геномом Raja. В пользу этого может свидетельствовать то, что ромботелые скаты отряда Rajiformes более примитивные, чем

Таблица 4. Структура генома рыб

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Класс Хрящевые рыбы Chondrichthyes			
Torpediniformes			
Torpedinidae			
Torpedo marmorata (скат электрический)	ОП	0,18	Olmo et al., 1980
	900 000	0,13	
	12 000	0,28	
	1	0,40	
Rajiformes			
Rajidae			
Raja asterias (скат лучистый)	ОП	0,09	Те же
	1 100 000	0,11	
	10 000	0,35	
	1	0,45	
Carchariniformes			
Scylliorhinidae			
Scylliorhinus stellaris (акула кошачья)	ОП	0,20	»
	2 200 000	0,10	
	18 000	0,32	
	1	0,38	
Класс Костные рыбы Osteichthyes			
Acipenseriformes			
Acipenseridae			
Acipenser acipenser (стерлядь)	ОП	0,08	Владыченская и др., 1980
	10 000	0,16	
	400	0,13	
	18	0,07	
	1	0,45	
Huso huso (белуга)	ОП+10 000	0,13	Владыченская, Кедрова, 1980
	1 600	0,16	
	30	0,27	
	1	0,44	
Lepidosteiformes			
Lepidosteidae			
Lepidosteus osseus (панцирная щука)	ОП+30 000	0,30	Владыченская и др., 1983
	3 000	0,28	
	1	0,42	
Clupeiformes			
Clupeidae			
Clupea harengus (сельдь)	ОП	0,25	Schmidtke et al., 1979b
	21	0,23	
	1	0,38	
	ОП	0,32	Schmidtke, Epplen, 1980
	2 400	0,08	
	1	0,58	
	ОП	0,25	Омельченко, Герасименко, 1981
	10 ¹ —10 ⁵	0,05	
	1	0,70	

Таблица 4 (продолжение)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>Sprattus sprattus</i> (шпрот европейский)	ОП 70 1	0,12 0,22 0,54	Schmidtke et al., 1979b
<i>Alosa sapidissima</i> (шэд)	ПП 1	0,48 0,52	Gharret et al., 1977
Salmoniformes			
Salmonidae			
<i>Oncorhynchus masu</i> (сима)	ОП 10 000 125 1	0,16 0,17 0,23 0,44	Наши данные
<i>O. keta</i> (кета)	ОП 3 000 35 1	0,07 0,22 0,37 0,32	Hanham, Smith, 1980
<i>O. nerka</i> (нерка)	ОП 23 000 425 1	0,06 0,16 0,38 0,36	Те же
	ОП 10 ⁴ —10 ⁵ 10 ² —10 ³ 1	0,10 0,15 0,45 0,30	Косюк, Борхсениус, 1981
<i>O. kisutsch</i> (кижуч)	ОП 85 000 835 1	0,04 0,16 0,37 0,40	Hanham, Smith, 1980
	ОП 10 ¹ —10 ⁵ 1	0,27 0,25 0,45	Омельченко, Гера- сименко, 1981
<i>O. tschawytscha</i> (ча- выча)	ПП 1	0,60 0,40	Gharret et al., 1977
<i>Salmo gairdneri</i> (ло- сось стальноголовый)	ПП 1	0,60 0,40	Те же
<i>S. irideus</i> (форель ра- дужная)	ОП 1 400 40 1	0,28 0,29 0,23 0,16	Schmidtke et al., 1979b
<i>S. trutta</i> (кумжа)	ОП 10 000 300 1	0,06 0,26 0,26 0,40	Serra, Mandarino, 1979
<i>Salvellinus fontinalis</i> (голец американский)	ОП 5 000 90 1	0,19 0,21 0,31 0,21	Schmidtke et al., 1979b
<i>S. malma</i> (мальма)	ОП 10 ⁴ —10 ⁵ 10 ² —10 ³ 1	0,10 0,15 0,45 0,30	Косюк, Борхсениус, 1981

Таблица 4 (продолжение)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>Prosopium williamsoni</i> (валек)	ПП 1	0,62 0,38	Gharret et al., 1977
<i>Coregonus lavaretus</i> (сиг проходной)	ОП 8 500 140 1	0,18 0,21 0,30 0,24	Schmidtke et al., 1979b
<i>C. sardinella</i> (ряпушка сибирская)	ОП+10 ⁴ 10 ² —10 ³ 1	0,29 0,35 0,29	Владыченская и др., 1976
<i>C. nasus</i> (чир)	ОП+10 ⁴ 1 000 200 1	0,43 0,20 0,08 0,18	Те же
<i>Thymallidae</i>			
<i>Thymallus thymallus</i> (хариус европейский)	ОП 38 000 350 1	0,14 0,15 0,42 0,23	Schmidtke et al., 1979b
	ОП 3 800 40 1	0,20 0,17 0,38 0,25	Ломов, 1982
<i>T. arcticus</i> (хариус сибирский)	ПП 1	0,61 0,39	Gharret et al., 1977
<i>Cypriniformes</i>			
<i>Cobitidae</i>			
<i>Misgurnus fossilis</i> (вьюн)	ОП 50 000 1 500 300 1	0,04 0,15 0,15 0,10 0,50	Kuprijanova, Timofeeva, 1974
<i>Cyprinidae</i>			
<i>Abramis brama</i> (лещ)	ОП 1 750 1	0,08 0,44 0,49	Schmidtke et al., 1979c
<i>Rutilus rutilus</i> (плотва)	ОП 120 1	0,10 0,32 0,50	Те же
	ОП 120 1	0,10 0,37 0,47	Schmidtke et al., 1979b
<i>Leuciscus cephalus</i> (голавль)	ОП 120 1	0,11 0,35 0,42	Schmidtke et al., 1979c
<i>Cyprinus carpio</i> (сазан)	ОП 1 400 1	0,07 0,21 0,72	Mauro, Michelli, 1979

Таблица 4 (окончание)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
	ОП	0,15	Schmidtke et al., 1979b
	160	0,17	
	1	0,49	
	ОП	0,15	Schmidtke et al., 1979c
	150	0,19	
	1	0,48	
	ПП	0,43	Gharret et al., 1977
	1	0,57	
Carassius auratus (карась серебряный)	ОП	0,06	Mauro, Michelli, 1979
	1 250	0,22	
	1	0,72	
Barbus barbus (усач обыкновенный)	ОП	0,12	Schmidtke et al., 1979c
	360	0,26	
	1	0,53	
	ОП	0,05	Mauro, Michelli, 1979
	1 050	0,23	
	1	0,72	
B. tetrazona (барбус суматранский)	ОП	0,12	Schmidtke et al., 1979c
	440	0,12	
	1	0,57	
Pleuronectiformes			
Pleuronectidae			
Platichthys stellatus (камбала звездчатая)	ПП	0,34	Gharret et al., 1977
	1	0,66	
Scorpaeniformes			
Hexagrammidae			
Ophiodon elongatus (терпуг зубатый)	ПП	0,36	Те же
	1	0,64	
Cottidae			
Euphrys bison (бычок-бизон)	ПП	0,42	»
	1	0,58	
Gadiformes			
Gadidae			
Gadus morhua (треска атлантическая)	>1 000	0,47	Helleiner et al., 1974
	10 ² —10 ³	0,03	
	1	0,50	
Urophycis tenuis (налим белый)	>1 000	0,47	Те же
	10 ² —10 ³	0,03	
	1	0,50	
Melanogrammus aeglefinus (пикша)	>1 000	0,47	»
	10 ² —10 ³	0,03	
	1	0,50	

П р и м е ч а н и е. ОП — обращенные повторы; ПП — общее количество повторяющихся последовательностей.

электрические скаты отряда *Torpediniformes* [Olmo et al., 1980]. Против полиплоидного происхождения *Torpedo* говорит тот факт, что оба эти ската имеют близкие числа хромосом: у *R. asterias* $2n=98$, а у *T. marmorata* $2n=86$ [Stingo, 1979].

2. Костные рыбы *Osteichthyes*

Ганоидные Ganoidomorpha

Изучены три представителя надотряда ганоидных: стерлядь *Acipenser acipenser*, белуга *Huso huso* и панцирник *Lepisosteus osseus* [Владыченская и др., 1980, 1983; Владыченская, Кедрова, 1980]. Более половины генома этих видов занимают повторы, которые образуют несколько фракций. Фракция, реассоциирующая при C_0t менее 0,5, составляет 24% у стерляди и только 13% у белуги; наоборот, фракция, реассоциирующая лишь немного быстрее, чем уникальная (20—30 копий), у белуги в 3 раза больше, чем у стерляди. Эта фракция отсутствует у панцирника. Промежуточная фракция (400—1600 копий) представлена приблизительно в равных количествах у белуги и стерляди и составляет 28% у панцирника. К сожалению, в области низких значений C_0t (менее 0,5) кривые кинетики реассоциации не охарактеризованы. Известно лишь, что обращенные повторы, реассоциирующие при C_0t $5 \cdot 10^{-5}$, составляют у стерляди 8%.

Лососевые Salmoniformes

Рыбы отряда лососеобразных *Salmoniformes*, включающиеся вместе с сельдеобразными *Clupeiformes* в надотряд клюпеоидных рыб *Clupeomorpha*, наиболее представлены в исследованиях структуры (а также организации) генома. В этом отношении клюпеоидные рыбы вместе с циприноидными составляют более 70% всех изученных рыб. Это видно из табл. 4, где приведена характеристика структуры генома рыб: клюпеоидные составляют более 50%, а циприноидные — более 20%. Объясняется это, во-первых, тем, что рыбы из обоих надотрядов, особенно из надотряда клюпеоидных, имеют важное промысловое значение. Во-вторых, рыбы обоих надотрядов являются прекрасными модельными системами для изучения диплоид-тетраплоидных взаимоотношений между достаточно близкими видами. Как уже отмечалось, лососевые рыбы являются филогенетически

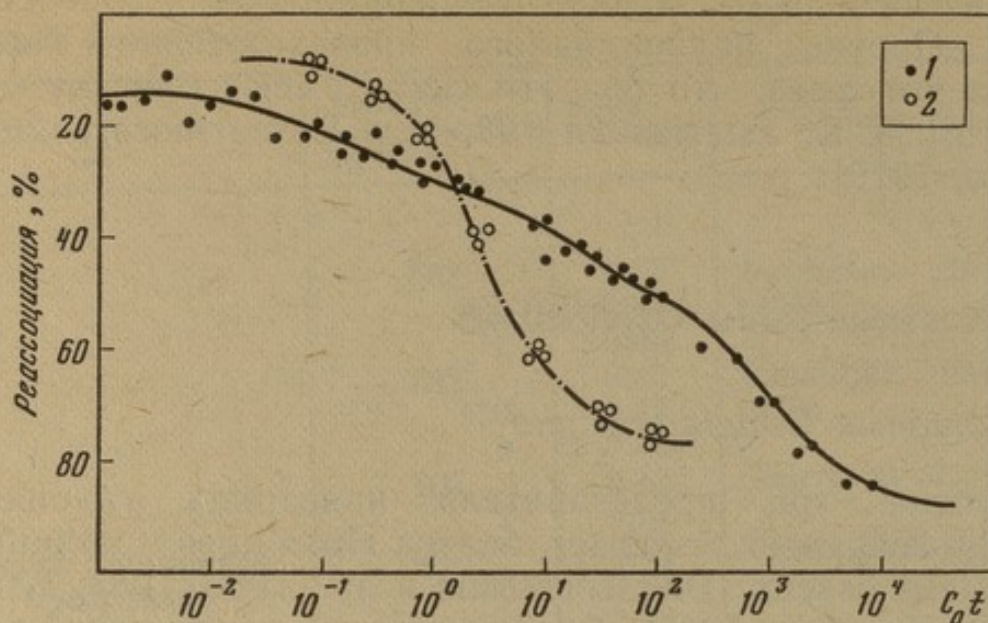


Рис. 6. Кинетика реассоциации коротких фрагментов ДНК симы *Oncorhynchus masu* (1) и *Escherichia coli* (2)

тетраплоидными видами [Ohno et al., 1968; Оно, 1973]. Число хромосомных плеч (а иногда и число хромосом) у них в 2 раза выше, чем у сельдеобразных [Carappa, Chiarelli, 1973; Sola et al., 1981]. Количество ДНК в геноме также в 2 раза выше [Hinegardner, Rosen, 1972; Schmidtke et al., 1976a]. Количество рибосомных генов [Schmidtke et al., 1976b], клеточных белков и РНК [Schmidtke et al., 1976a] у лососевых в 1,5—2 раза больше, чем у сельдеобразных.

Рассмотрим структуру генома лососевых на примере симы *Oncorhynchus masu*, изученной в нашей лаборатории. Кривая кинетики реассоциации коротких фрагментов ДНК (0,3 т. п. н.) приведена на рис. 6. Общее количество повторов в геноме симы составляет 56%. Повторяющиеся последовательности реассоциируют с образованием на кинетической кривой трех фракций, различающихся по скорости реассоциации: очень быстро реассоциирующей (очень быстрой, $C_0t \ 10^{-3}$, 16%), умеренно быстро реассоциирующей (быстрой, $C_0t \ 10^{-2}—10^0$, 17%) и промежуточной ($C_0t \ 10^0—10^2$, 23%). Кроме того, на рис. 6 изображена кинетика реассоциации фрагментов ДНК *E. coli* (0,3 т. п. н.), полученная в идентичных условиях. Быстрая и промежуточная фракции представлены последовательностями, имеющими 10^4 и 10^2 копий в гаплоидном геноме соответственно. Более повторенные последовательности в виде отдельной кинетической фракции не выявляются, так как они, если и

имеются в геноме симы, реассоциируют с очень высокой скоростью и в используемых нами условиях эксперимента неотличимы от мгновенно реассоциирующих обращенных повторов ($C_0t < 10^{-3}$). Дополнительный эксперимент, в котором удалось получить значение процента реассоциации при очень низких C_0t ($C_0t = 5 \cdot 10^{-5}$), когда возможна реассоциация только лишь обращенных повторов, показал, что доля дуплексов в этом случае лишь ненамного меньше, чем при $C_0t 10^{-3}$. Отсюда следует, что очень быстрая фракция главным образом представлена обращенными повторами (палиндромами).

Самая большая фракция $\rightarrow$ медленно реассоциирующая содержит неповторяющиеся или малоповторяющиеся последовательности. Значение C_0t , при котором реассоциирует половина этой фракции ($C_0t_{1/2}$), равно 10^3 . Значение $C_0t_{1/2}$ ДНК *E. coli* равно в данном случае трем. Следовательно, кинетическая сложность ДНК симы в 330 раз больше кинетической сложности (в данном случае размера генома) *E. coli*. Размер генома *E. coli* равен $4,2 \cdot 10^6$ п. н. [Cairns, 1963], отсюда следует, что кинетическая сложность ДНК симы равна $1,4 \cdot 10^9$ п. н.

Недавно Хэнхем и Смит [Hanham, Smith, 1980] получили кривые кинетики реассоциации коротких фрагментов ДНК еще трех видов лососей рода *Oncorhynchus*: кеты *O. keta*, кижуча *O. kisutch* и нерки *O. nerka*. Сопоставление параметров этих кривых с параметрами кривой, полученной для *O. masu*, показало большое сходство в структуре геномов всех этих видов. В геноме кеты, нерки и кижуча повторяющиеся последовательности представлены также в виде трех фракций: обращенных повторов (4% в ДНК кижуча и нерки и 10% в ДНК симы), быстрой (15—21%) и промежуточной (34—38%). Частота повторяемости быстрой фракции у нерки и кижуча $(2-8) \cdot 10^4$, у кеты — $3 \cdot 10^3$, промежуточной фракции — у нерки и кижуча 400—800, у кеты 35. Следовательно, по частоте повторяемости фракций сима занимает промежуточное положение между кижучем и неркой, с одной стороны, и кетой — с другой. Относительное содержание быстрой фракции одинаково у всех четырех видов рода *Oncorhynchus*. Доля же промежуточной фракции у симы меньше, чем у других видов рода. Значение $C_0t_{1/2}$ уникальной фракции ДНК нерки в 2 раза меньше, чем ожидалось исходя из размера генома (диплоидный размер 6,0 пг) [Hinegardner, Rosen, 1972], у других видов это значение близко к ожидаемому [Hanham, Smith 1980]. Авторы не ставили специальных контрольных

экспериментов и не обсуждают вопроса о тетраплоидности лососей.

В нашем случае, если предположить, что размер генома симы близок к таковому других *Oncorhynchus* и равен 6—7 пг (2С), кинетическая сложность ДНК симы ($1,4 \cdot 10^9$ п. н.) в 4 раза меньше размера генома ($6 \text{ пг} = 5,4 \cdot 10^9$ п. н.). По-видимому, сима (а также нерка) является тетраплоидом недавнего происхождения и каждая копия четырехкратно представленных уникальных последовательностей ДНК еще не настолько дивергировала, чтобы реассоциировать независимо.

Если в нашем эксперименте и в работе Хэнхема и Смита вопрос о полиплоидности лососей специально не исследовался, то работа Шмидтке и соавторов [Schmidtke et al., 1979b] целиком посвящена этому. Авторы исследовали кинетику реассоциации коротких фрагментов ДНК сельди *Clupea harengus*, шпрота *Sprattus sprattus*, хариуса *Thymallus thymallus*, форели *Salmo irideus*, сига *Coregonus lavaretus* и гольца *Salvelinus fontinalis*, а также двух видов семейства карповых — плотвы *Rutilus rutilus* и сазана *Cyprinus carpio*. Для того чтобы как можно точнее вычислить значение $C_0t_{1/2}$ уникальной фракции, а следовательно, и кинетическую сложность, эта фракция была препаративно выделена из тотального препарата ДНК. Сравнивая кинетическую и аналитическую сложность генома, авторы нашли, что для пяти видов — обоих карпообразных, сельди, шпрота и хариуса — частота повторяемости уникальной фракции близка к единице, а для форели, сига и гольца около или даже больше двух. Из этих видов сазан и все лососевые (хариус, форель, сиг и голец) являются филогенетически тетраплоидными, для всех них следовало ожидать частоты повторения, равной двум. Однако полученные результаты говорят о том, что хариус (*Salmoniformes*) и сазан (*Cypriniformes*) дивергировали очень сильно с момента тетраплоидизации, что их ДНК по кинетическим характеристикам уже не отличается от ДНК диплоидных контролей (плотвы, сельди и шпрота), тогда как другие тетраплоиды еще не успели так дивергировать. Возникает вопрос: как же эти данные соотносятся с возрастом видов?

Согласно палеонтологическим данным [Обручев, 1964], возраст первых находок, относящихся к роду *Salmo*, 25 млн. лет, а *Coregonus* — 20 млн. лет, в то время как *Thymallus* и *Cyprinus carpio* — 60 млн. лет. Если предположить, что мутации, приводящие к заменам оснований, происходят случайным образом у всех видов, то получается, что степень

внутригеномной дивергенции последовательностей у *Salmo* и *Coregonus* значительно ниже, чем можно ожидать из возраста этих родов. Авторы исследования [Schmidtke et al., 1979b] предположили, что либо полиплоидизация имела место относительно недавно и независимо в каждой линии, либо скорость замещения нуклеотидов в этих таксонах не случайна и очень низка по сравнению с другими группами эукариот. Чтобы проверить, действительно ли скорость замещения нуклеотидов у лососевых низка, Шмидтке и Кандт [Schmidtke, Kandt, 1981] провели перекрестную ДНК — ДНК-гибридизацию и выяснили, насколько различаются уникальные последовательности ДНК у разновозрастных представителей семейств Salmonidae, Osmeridae и Clupeidae (все из надотряда Clupeomorpha). Было показано, что количество общих последовательностей и степень замещения нуклеотидов находятся в соответствии с систематическим положением изученных видов. Средняя скорость замещения равна 0,1—0,25% нуклеотидов на миллион лет и является обычной и для животных и для растений. Поэтому авторы считают, что все же тетраплоидизация у лососевых произошла недавно и независимо в каждом роде и даже у видов внутри рода.

ДНК—ДНК-гибридизационные эксперименты проводились и между видами рода *Oncorhynchus*, и было показано, что уникальные последовательности ДНК видов этого рода дивергировали сильнее, чем у видов родов *Salmo*, *Salvelinus* и *Coregonus* [Hanham, Smith, 1980]. Скорость замещения нуклеотидов в ДНК *Oncorhynchus* значительно выше — 1% на миллион лет — и сравнима с таковой у грызунов (1,6%) [Kohne, 1970].

Подводя итоги изучению структуры генома лососевых рыб, следует отметить, что эта группа характеризуется очень большим содержанием повторов в геноме — от 55 до 85% (см. табл. 4). Почти у всех видов повторяющиеся последовательности реассоциируют с образованием хорошо различимых трех фракций: обращенных повторов, с повторяемостью от нескольких тысяч до нескольких десятков тысяч раз и от десятков до сотен раз. В то же время у сельдеобразных, родственников лососевых, доля повторов ниже — около 40% — и отсутствует фракция с повторяемостью десятки тысяч раз.

Как уже отмечалось, карпообразные рыбы занимают второе место по изученности генома после лососевых.

По структуре генома представитель семейства Cobitidae вьюн *Misgurnus fossilis* отличается от видов семейства Cyprinidae наличием (подобно лососевым) нескольких фракций повторов [Куприянова, Тимофеева, 1973: Kuprijanova, Timofeeva, 1974].

В геномах Cyprinidae, как и у сельдевидных, явно не обнаруживается фракция с повторяемостью десятки тысяч раз (см. табл. 4), а общая доля повторов в среднем составляет 45—50%. Большая часть видов была исследована Шмидтке и соавторами [Schmidtke et al., 1979c] в связи с вариацией в их геномном размере: *Barbus tetrazona*, *Rutilus rutilus*, *Abramis brama* и *Leuciscus cephalus* — диплоидные виды и *Barbus barbus* и *Cyprinus carpio* — тетраплоиды. Авторы показали, что количество как повторяющейся, так и уникальной ДНК у диплоидных видов коррелирует с размером генома (коэффициенты корреляции $r=0,999$ и $0,989$ соответственно); количество ДНК в составе промежуточной фракции также очень хорошо коррелирует с размером генома ($r=0,986$). Лишь очень быстрая фракция почти не меняется с изменением размера генома. У обоих же тетраплоидов количество уникальных последовательностей в 2 раза больше, а количество очень быстрых повторов в 2—3 раза больше, чем у диплоидов, тогда как количество промежуточных повторов равно таковым у диплоидов. Выводы авторов о времени возникновения тетраплоидного *Cyprinus carpio* мы уже цитировали выше [Schmidtke et al., 1979b].

Исследование кинетики реассоциации ДНК карпообразных в связи с полиплоидией видов проводилось и другими авторами, например Мауро и Микели [Mauro, Micheli, 1979]. Были изучены тетраплоиды — золотая рыбка *Carassius auratus*, барбус *Barbus barbus* и сазан *Cyprinus carpio* ($2n=100-104$) и диплоиды — красноперка *Scardinius erythrophthalmus*, линь *Tinca tinca*, голавль *Leuciscus cephalus* и уклейка *Alburnus alburnus* ($2n=48-50$). Авторы показали, что кривые кинетики реассоциации ДНК диплоидов не позволяют четко выделить фракцию промежуточных повторов: кривая в области реассоциации редких повторов монотонно переходит во фракцию уникальных последовательностей (авторы не проводили машинной обработки данных). На кинетических кривых ДНК тетраплоидов этот класс повторов четко дифференцируется, имея дискретную частоту

повторяемости — 1000—1400. Поскольку полученные различия необъяснимы с точки зрения плоидности видов, авторы предполагают различные пути эволюции внутри этих двух отличающихся по плоидности групп. Следует сказать, что, если бы кривые рассчитывались с помощью ЭВМ, эта фракция с необходимостью обозначилась бы.

Таким образом, большая часть исследованных видов *Cyprinidae* в отличие от лососей и выюна не имеет четко выявляющейся фракции с повторяемостью десятки тысяч раз, а доля повторов в геноме ниже, чем у лососей, но больше, чем у рептилий, птиц и млекопитающих, как мы убедимся далее.

* * *

Еще три отряда рыб представлены в исследованиях структуры генома одним—тремя видами, причем кинетика реассоциации их ДНК снята очень приблизительно (см. табл. 4).

Подведем некоторые итоги сделанным наблюдениям. Общая доля повторов в геномах рыб варьирует в широких пределах — от 28 до 85%. Частота встречаемости определенных значений доли повторов у рыб, как видно из приведенной гистограммы (рис. 7), имеет почти нормальное

Рис. 7. Гистограмма доли повторяющихся последовательностей ДНК у костных рыб *Osteichthyes*

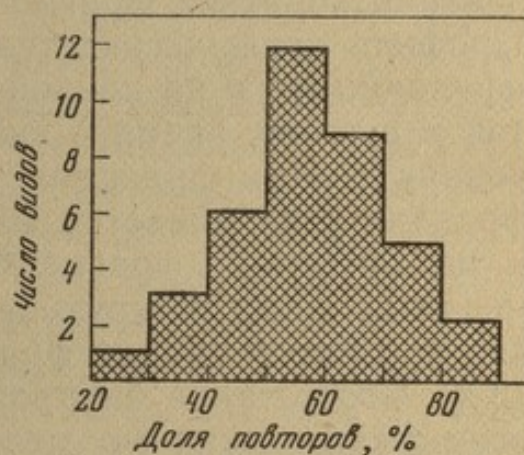
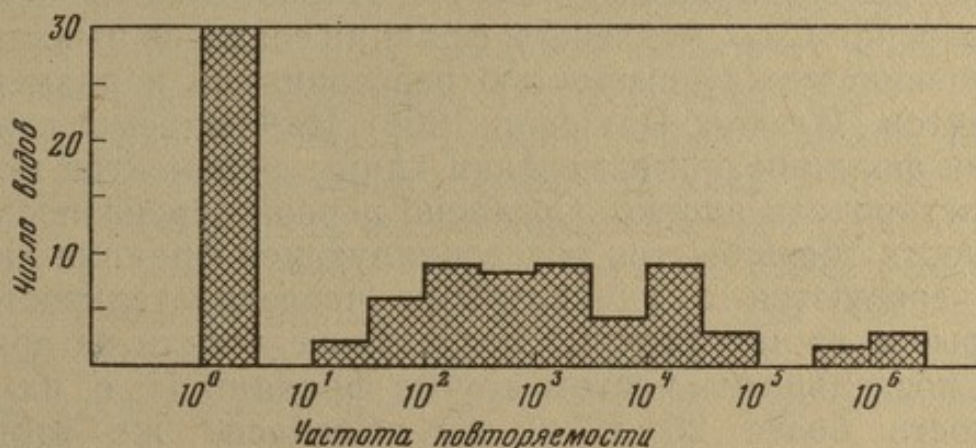


Рис. 8. Гистограмма частоты повторяемости последовательностей ДНК у рыб



распределение с максимумом при значениях 50—60%. Среднее же значение относительного содержания повторов в геномах изученных видов рыб равно 56%. У рыб в целом мы не обнаруживаем преобладания какого-либо значения частоты повторяемости, кроме 1 (рис. 8). Однако в разных группах в этом отношении имеются свои особенности. У хрящевых рыб не обнаружена фракция с повторяемостью менее 10 тыс., а у сельдеобразных, наоборот, фракция с повторяемостью более 10 тыс. Лишь у лососевых и выюна имеются и те и другие фракции.

§ 2. Организация генома

Методом сопоставления кинетических кривых, полученных при использовании фрагментов ДНК разной длины, исследовано 12 видов, из которых три вида хрящевых и девять видов костных рыб. Среди изученных костных рыб и в данном случае доминируют представители отряда лососевых (пять из девяти видов). Рассмотрим для примера ход анализа молекулярной организации генома изученной нами симы.

На рис. 9 показаны кривые кинетики реассоциации фрагментов ДНК симы длиной 2,4 и 20 т. п. н. Для сравнения пунктиром изображен ход кривой, полученной при использовании коротких фрагментов ДНК (0,3 т. п. н.) из рис. 6. Профиль кривых свидетельствует о наличии в них тех же фракций, что и на кривой реассоциации коротких фрагментов и в то же время о значительных количественных изменениях в этих фракциях. Очень быстро реассоциирующая фракция увеличивается до 36% при фрагментах 2,4 т. п. н. и до 50% при фрагментах 20 т. п. н. Наоборот, доля медленно реассоциирующей фракции уменьшается, составляя при реассоциации фрагментов длиной 20 т. п. н. только 13%. Содержание быстрой и промежуточной фракций при этом практически не меняется. Изменение длины взятых в опыт по реассоциации фрагментов сопровождается изменением значения $C_0t_{1/2}$ медленной фракции согласно известному соотношению между скоростью реассоциации и размерами фрагментов [Wetmur, Davidson, 1968]. Наблюдаемое изменение доли фракции при изменении длины фрагментов можно интерпретировать двояко. Согласно первой версии последовательности очень быстро реассоциирующей фракции интенсивно чередуются с уникальными последовательностями, а быстрые и промежуточные последовательности не примыкают к последовательностям других фракций (т. е. их протяженность более 20 т. п. н.). Согласно же второму

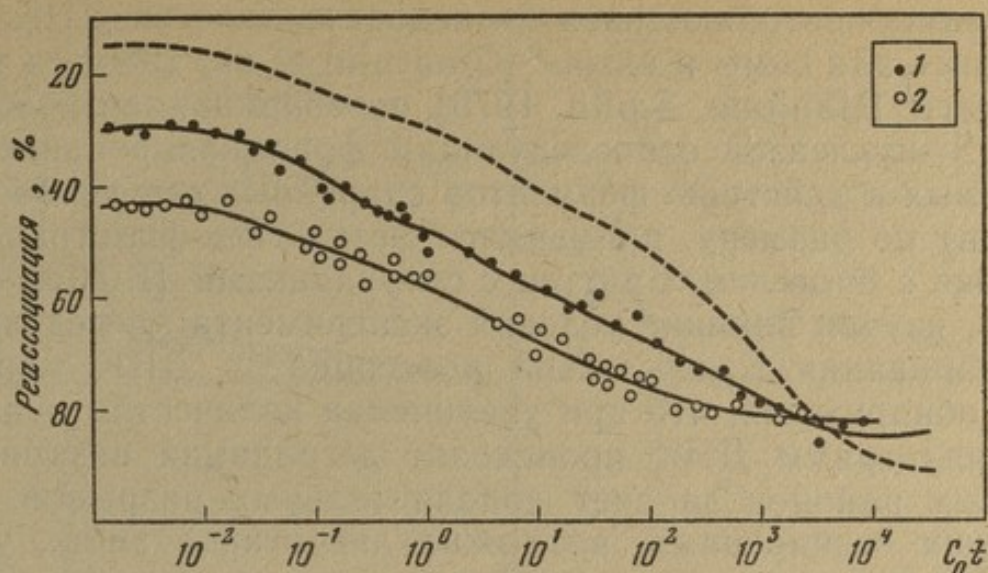


Рис. 9. Кинетика реассоциации ДНК симы *Opsohynchus masu* при длине фрагментов 2,4 (1) и 20 (2) т. п. н.

Пунктиром показана кривая кинетики реассоциации коротких фрагментов ДНК из рис. 6

предположению большинство последовательностей каждой фракции чередуются друг с другом уже на небольшом отрезке ДНК, менее 2,4 т. п. н. Тогда на фрагменте длиной 2,4 т. п. н. могут присутствовать быстрые, промежуточные, уникальные последовательности, соседствующие не только друг с другом, но и с обращенными повторами. Поэтому при увеличении длины фрагментов обогащение быстрой и промежуточной фракций за счет уникальной компенсируется их уменьшением, вызываемым вовлечением части из них в состав очень быстрой фракции. Для того чтобы выяснить, какая же из этих двух возможностей реализуется в геноме симы, очень быстрая фракция ДНК была выделена препаративно и отдельно проанализирована. Было показано, что на участке длиной как 20 т. п. н., так и 2 т. п. н. к очень быстро реассоциирующим последовательностям примыкают последовательности всех кинетических фракций, имеющих в геноме симы. В целом весь этот анализ показал, что очень большая часть генома симы ($\geq 50\%$) организована в виде регулярно чередующихся повторяющихся и уникальных последовательностей, причем в чередование с уникальными последовательностями с периодом менее 2 т. п. н. вовлечены и очень быстрые, и быстрые (10^4 копий), и промежуточные (10^2 копий) повторы. Как уже отмечалось, очень быстро реассоциирующая фракция ДНК симы представлена главным образом обращенными повторами.

Длины повторяющихся последовательностей ДНК определялись для симы и вьюна [Ginatulin et al., 1980], а также для кеты [Hanham, Smith, 1979] перевариванием реассоциатов S_1 -нуклеазой с последующим фракционированием устойчивых к действию ферментов спаренных сегментов (дуплексов) по размеру, применялся метод гель-фильтрации на колонке с биогелем. Бриттен с сотрудниками [Britten et al., 1976], изучая влияние условий эксперимента на результаты переваривания S_1 -нуклеазой реассоциатов ДНК морского ежа, обнаружили, что при увеличении количества нуклеазы на миллиграмм ДНК происходит деградация внутри дуплексных районов за счет дополнительных разрывов в небольших неспаренных, возможно дивергировавших, участках. В результате при разной степени переваривания (разных DIG.) общее количество S_1 -устойчивых дуплексов оставалось одинаковым, но сильно изменялось соотношение длинных и коротких дуплексов.

Подобные исследования были проведены нами для ДНК симы. Длинные фрагменты ДНК (20 т. п. н.) реассоциировали до C_0t 50 и обрабатывали S_1 -нуклеазой. Количество нуклеазы было взято такое, что степень переваривания (DIG.) составила 0,38; 0,70; 0,83; 0,95. После переваривания дуплексы отделяли хроматографией на ГАП от продуктов деградации реассоциатов и наносили на колонку с биогелем. Количество материала, связавшегося с ГАП, очень незначительно уменьшалось (от 27,3 до 25,6%) с увеличением DIG. от 0,38 до 0,95. Следовательно, уже при мягкой обработке S_1 -нуклеазой (DIG.=0,38) одностранные участки фрагментов ДНК симы достаточно эффективно отделяются от спаренных участков (дуплексов). Средняя доля спаренных участков во фрагментах, рассчитанная как отношение процента связавшегося с ГАП материала к проценту реассоциации фрагментов длиной 20 т. п. н., при C_0t 50 уменьшается от 36,9 до 34,6 соответственно при увеличении DIG. от 0,38 до 0,95. Полученные при каждом значении DIG. дуплексы подвергали далее фракционированию по размерам на биогеле (рис. 10). Сопоставление профилей гель-фильтрации обнаруживает сильный эффект количества нуклеазы на соотношение дуплексов разных размеров. При очень ограниченном гидролизе (DIG.=0,38) количество длинных дуплексов, элюирующих в исключенном объеме, т. е. имеющих размеры более 1,2 т. п. н., составляет 70% (рис. 10, а). Более интенсивная обработка S_1 -нуклеазой приводит к уменьшению пика этих дуплексов до 50% и менее (рис. 10, б, в). Наконец, в жестких условиях гидролиза

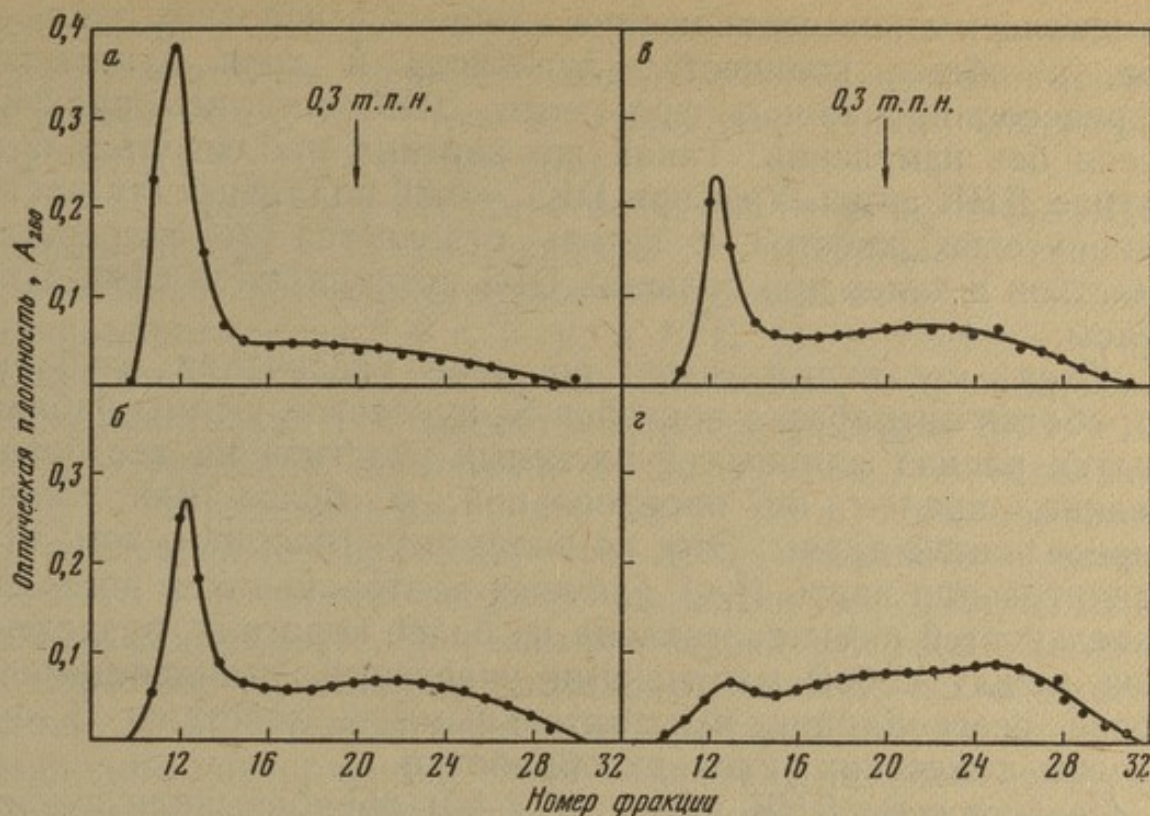


Рис. 10. Гель-фильтрация устойчивых к действию S_1 -нуклеазы дуплексов ДНК симы *Oncorhynchus masu* при разной степени переваривания DIG.=0,38 (а); 0,70 (б); 0,83 (в) и 0,95 (г). Стрелками показано положение пика эволюции маркерной ДНК длиной 0,3 т. п. н.

только пятая часть всех дуплексов выходит в исключенном объеме (рис. 10, г). При этом увеличивается количество коротких дуплексов, включающихся в гель и распределяющихся на хроматограммах по размерам. Центр распределения коротких дуплексов (среднее значение) смещается при увеличении DIG. в сторону меньших длин, от 0,6 т. п. н. (при DIG.=0,38) до 0,4 т. п. н. (DIG.=0,95). При ограниченном гидролизе короткие дуплексы не имеют выраженного максимума распределения. Максимум, соответствующий 0,3 т. п. н., появляется при DIG.=0,70 и становится более или менее выраженным при DIG.=0,83. Дальнейшее увеличение DIG. до 0,95 приводит к широкому распределению коротких дуплексов с размытыми максимумами длин, соответствующими 0,7 т. п. н. (малый пик) и 0,25 т. п. н. (большой пик).

Влияние количества нуклеазы на распределение дуплексов по размеру в случае ДНК симы выражено сильнее, чем наблюдалось при исследовании ДНК морского ежа *Strongylocentrotus purpuratus* [Britten et al., 1976]. Как уже упоминалось выше, при разных DIG. у этого вида (*S. purpuratus*)

изменялось лишь соотношение длинных и коротких дуплексов, а общее количество дуплексов и доля дуплексов в реассоциировавшем фрагменте ДНК остались практически без изменения. Такая же картина наблюдается и в случае ДНК симы. Уже при $DIG. = 0,38$ подавляющая часть однонитевых хвостов и петель отделяется от спаренных участков и далее при больших $DIG.$ разрушаются сами дуплексы.

Итак, мы видим, что по мере увеличения глубины обработки препаратов повторов S_1 -нуклеазой у симы наблюдается распад длинных дуплексных участков на все более мелкие, причем не произвольной, а более или менее определенной длины. Это, по-видимому, говорит о том, что значительная часть ($2/3$) длинных повторяющихся последовательностей симы составлена из более коротких, разделенных между собой маленькими участками, становящимися после реассоциации чувствительными к действию S_1 -нуклеазы в жестких условиях обработки.

Реассоциаты ДНК выюна (C_0t 50) обрабатывали нуклеазой только при $DIG. = 0,70$. Профиль эволюции дуплексов при гель-фильтрации их на биогеле [Ginatulin et al., 1980] очень похож на профиль дуплексов симы при том же $DIG.$ (рис. 10, б). Количество длинных и коротких дуплексов (до 50%) совпадает с полученным для симы.

Фрагменты ДНК кеты, реассоциировавшие до C_0t 100, обрабатывались S_1 -нуклеазой, и дуплексы хроматографировали на колонке с сефарозой CL-2B. Короткие дуплексы элюировали из колонки со значительно более выраженным максимумом по сравнению с таковыми симы и выюна. Эти дуплексы имели среднюю длину 0,35 т. п. н. и составили 44% от всего S_1 -устойчивого материала [Hanham, Smith, 1979].

Для симы, помимо определения длины всех повторов, нами было проведено определение длины обращенных повторов ДНК. Фрагменты ДНК длиной 2 т. п. н. реассоциировали при низкой ионной силе, до C_0t 5×10^{-5} , и реассоциаты обрабатывали S_1 -нуклеазой ($DIG. = 0,91$). Устойчивые к действию нуклеазы дуплексы, составившие 4% генома, фракционировали на колонке с биогелем $A = 15 m$. Поскольку при этом значении C_0t реассоциируют лишь обращенные повторы, то дуплексы представляют собой спаренные стволы шпилек. Дуплексы имели широкое распределение с двумя максимумами, соответствующими дуплексам длиннее 1,2 т. п. н. и размером 0,1—0,3 т. п. н. Центр распределения соответствовал значению 0,5 т. п. н. Зная эту величину, долю

дуплексов в геноме (4%) и размер генома $1C = 1,4 \times 10^9$ пар нуклеотидов, можно вычислить количество палиндромов в геноме симы. Их число в гаплоидном геноме составляет 56 тыс. ($1,4 \times 10^9 \times 0,042 \times 500$).

Исследование кинетики реассоциации фрагментов ДНК разной длины у симы показало, что 45% (19% генома) уникальных последовательностей связываются с ГАП при длине фрагментов 2,4 т. п. н. и 70% (31% генома) — при длине фрагментов 20 т. п. н. Следовательно, 45% уникальных последовательностей являются короткими, менее 2,4 т. п. н., 25% — умеренно длинными, 3—20 т. п. н., и остальные 30% — сверхдлинными, более 20 т. п. н. При обработке S_1 -нуклеазой обнаружено, что более половины повторяющихся последовательностей являются короткими, менее 1000 п. н. Следовательно, если суммировать короткие повторы и короткие уникальные последовательности, то окажется, что почти 50% генома занято перемежающимися с коротким периодом повторяющимися и уникальными последовательностями. Точно такие расчеты были проведены Бриттеном, Дэвидсоном и др., чтобы показать, что в геноме большинства изученных ими эукариот от 50 до 70% последовательностей ДНК перемежаются с коротким периодом («Хенорус-тип» организации) [Davidson et al., 1975; Goldberg et al., 1975; Galau et al., 1976]. Однако, как мы уже убедились, большая часть коротких повторов перемежается между собой. Из того, что лишь 9% дуплексов элюируются как короткие при мягком гидролизе ($DIG. = 0,38$), можно заключить, что именно они, вероятнее всего, чередуются с короткими уникальными последовательностями. Тогда доля генома, занятая чередующимися с коротким периодом (менее 2,4 т. п. н.) повторяющимися и уникальными последовательностями, будет равна 28% (9% повторы и 19% уникальные последовательности).

В табл. 5 обобщены результаты исследования организации генома 12 видов рыб. Приведены следующие характеристики: 1) общая доля генома, занятая уникальными последовательностями, и 2) доля уникальных последовательностей, являющихся короткими, т. е. короче 3 т. п. н., выраженная как процент от всей уникальной фракции. Приводить в таблице долю генома, занятую общим количеством коротких повторяющихся и уникальных последовательностей, как это сделано в работе Дэвидсона и соавторов [Davidson et al., 1975], по нашему мнению, не имеет смысла, так как значительная часть коротких повторов чередуется между собой.

Таблица 5. Организация генома рыб

Вид	Общее содержание уникальных последовательностей, % генома	Доля коротких уникальных последовательностей, % фракции	Автор, год
Класс Хрящевые рыбы Chondrichthyes			
Torpediniformes			
Torpedinidae			
Torpedo marmorata (скат электрический)	41	50	Olmo et al., 1982
Rajidae			
Raja asterias (скат лучистый)	45	50	Те же
Carcharhiniformes			
Scylliorhinidae			
Scylliorhinus stellatus (акула кошачья)	38	45	»
Класс Костные рыбы Osteichthyes			
Acipenseriformes			
Acipenseridae			
Acipenser acipenser (стерлядь)	~45	80	Владыченская и др., 1980
Lepidosteiformes			
Lepidosteidae			
Lepidosteus osseus (панцирная щука)	42	< 10	Владыченская и др., 1983
Clupeiformes			
Clupeidae			
Clupea harengus (сельдь атлантическая)	58	60	Schmidtke, Epplen, 1980
Salmoniformes			
Salmonidae			
Oncorhynchus keta (кета)	32	80	Hanham, Smith, 1979
O. masu (сима)	44	45	Наши данные
O. nerka (нерка)	30	80	Косюк, Борхсениус, 1981
Salvelinus malma (мальма)	30	80	Те же
Thymallidae			
Thymallus thymallus (хариус европейский)	25	80	Ломов, 1982
Cypriniformes			
Cobitidae			
Misgurnus fossilis (вьюн)	50	30	Куприянова и др., 1977

Прежде всего бросается в глаза то, что почти все исследованные виды рыб, за исключением панцирной щуки, имеют геном с преобладанием коротких уникальных последовательностей, которые составляют 40—80% фракции независимо от количества уникальных последовательностей в геноме. По этому показателю, придерживаясь определения, данного Дэвидсоном и соавторами [Davidson et al., 1975], можно отметить, что геномы этих рыб устроены по «Хепорустипу». Лишь у выюна короткими являются 30% уникальных последовательностей. Все рыбы, исключая панцирника, характеризуются очень сильной разбросанностью обращенных повторов. Почти во всех работах показано, что с увеличением длины фрагментов увеличивается в основном очень быстрая фракция. Следует отметить, что такое качественное единообразие организации последовательностей ДНК наблюдается у видов, сильно отличающихся по систематическому положению (относящихся к разным отрядам и даже классам рыб) и по размеру генома (от 2 пг у сельди до 14 пг у электрического ската).

Исключение составляет панцирник (панцирная щука). Этот вид имеет геном, в котором преобладают длинные последовательности.

§ 3. Размер генома

Мы располагаем сведениями о размере генома 45 видов хрящевых рыб и 380 видов костных рыб (табл. 6). Нужно отметить, что основная заслуга в исследованиях размера генома принадлежит Хайнгарднеру: им изучено более 70% всех исследованных рыб [Hinegardner, 1968, 1976 a, b; Hinegardner, Rosen, 1972].

1. Хрящевые рыбы Chondrichthyes

Размеры геномов хрящевых рыб колеблются от 3 пг (представитель подкласса цельноголовых) до 20 пг (скватинообразные акулы). Из табл. 6 видно, что, несмотря на такие колебания внутри семейства, колебания в геномном размере незначительны. Большая часть видов (70% всех видов) имеет величину генома в пределах 6—10 пг, среднее значение около 8 пг. Среднее же значение для всего класса Chondrichthyes равно 9,3. Количество ДНК в хромосомах хрящевых рыб не коррелирует с числом хромосом [Stingo, 1979].

Таблица 6. Размеры генома рыб

Вид	нг/2С	Автор, год
Класс Хрящевые рыбы Chondrichthyes		
Squaliformes		
Squalidae		
<i>Squalus acanthias</i>	14,7	Pedersen, 1971
	12,0	Hinegardner, 1976a
	14,4	Stingo, 1979
Hexanchiformes		
Hexanchidae		
<i>Hexanchus griseus</i>	10,7	»
Squatiniiformes		
Squatinae		
<i>Squatina californica</i>	18,6	Hinegardner, 1976a
<i>S. squatina</i>	19,6	»
Heterodontiformes		
Heterodontidae		
<i>Heterodontus francisci</i>	13,6	»
Orectolobiformes		
Ginglyestomatidae		
<i>Ginglyestoma cirratum</i>	8,0	»
Carcharhiniiformes		
<i>Scyliorhinus canicula</i>	11,0	Vialli, 1957
	11,3	Stingo, 1977
<i>S. stellaris</i>	12,3	»
<i>Cephaloscyllium uter</i>	15,4	Hinegardner, 1976a
Triakidae		
<i>Mustelus</i> sp.	9,6	Hinegardner, 1976a
<i>M. canis</i>	9,2	»
<i>M. californicus</i>	12,8	»
<i>M. norris</i>	9,0	»
<i>Triakis semifasciata</i>	9,6	»
Carcharhinidae		
<i>Carcharias obscurus</i>	5,5	Mirsky, Ris, 1951
<i>C. longimanus</i>	6,7	»
<i>Carcharhinus limbatus</i>	7,4	Hinegardner, 1976a
<i>C. acronatus</i>	6,8	»
<i>Negaprion brevirostris</i>	7,4	»
<i>Prionace glauca</i>	8,6	»
Sphyrnidae		
<i>Sphyrna tiburo</i>	7,8	»
<i>S. lewini</i>	7,0	»
Rajiformes		
Rhinobatidae		
<i>Rhinobatus productus</i>	8,0	»
Platyrrhinidae		
<i>Platyrrhineides triseriata</i>	15,2	»
Rajidae		
<i>Raja erinacea</i>	7,0	»
<i>R. eglanteria</i>	7,2	»
<i>R. trachura</i>	5,6	»

Таблица 6 (продолжение)

Вид	кг/2С	Автор, год
<i>Raja batis</i>	6,2	Stingo, 1979
<i>R. naevis</i>	6,4	»
<i>R. clavata</i>	5,4	»
<i>R. circularis</i>	7,3	»
<i>R. fullonica</i>	6,3	»
<i>R. montagni</i>	6,9	»
Pristiformes		
Pristidae		
<i>Pristis pectinatus</i>	5,6	Hinegardner, 1976a
Torpediniformes		
Torpedinidae		
<i>Torpedo ocellata</i>	11,0	Vialli, 1957
	15,0	Stingo, 1976
<i>T. marmorata</i>	14,0	»
<i>T. californica</i>	14,6	Hinegardner, 1976a
<i>Narcine brasiliensis</i>	8,4	»
Myliobatiformes		
Dasyatidae		
<i>Dasyatis say</i>	9,4	»
Urolophidae		
<i>Urolophus halleri</i>	13,0	»
Gymnuridae		
<i>Gymnura micrura</i>	16,2	»
Myliobatidae		
<i>Myliobatis freminvillei</i>	9,8	»
<i>M. californicus</i>	9,8	»
Rhinopteridae		
<i>Rhinoptera quadriloba</i>	10,4	»
Chimaeriformes		
Chimaeridae		
<i>Hydrolagus coliei</i>	3,2	»
	3,0	Ohno et al., 1969
Класс Костные рыбы Osteichthyes		
Coelacanthiformes		
Latimeriidae		
<i>Latimeria chalumnae</i>	14,4	Cimino, Bahr, 1974
	13,2	Thompson et al., 1973
Ceratodiformes		
Ceratodidae		
<i>Neoceratodus forsteri</i>	160,3	Pedersen, 1971
Lepidosireniformes		
Lepidosirenidae		
<i>Lepidosiren paradoxa</i>	248,8	Ohno, Atkin, 1966
	241,4	Pedersen, 1971
Protopteridae		
<i>Protopterus aethiopicus</i>	284,1	»
Acipenseriformes		
Acipenseridae		
<i>Acipenser transmontanus</i>	10,2	»

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
<i>Acipenser acipenser</i>	4,6	Владыченская, Кедрова, 1980
<i>A. sturio</i>	3,6	Fontana, 1976
	3,2	Mirsky, Ris, 1951
<i>A. naccarii</i>	5,7—6,3	Fontana, 1976
<i>Huso huso</i>	3,6	»
	4,2	Владыченская, Кедрова, 1980
<i>Scaphirhynchus platyrhynchus</i>	3,6	Оно, 1973
Polypteriformes		
Polypteridae		
<i>Polypterus bichir</i>	9,8	Hinegardner, 1976a
<i>Polypterus</i> sp.	9,8	»
<i>P. palmas</i>	11,7	Bachmann et al., 1972c
<i>Calamoichthys calabaricus</i>	9,8	Hinegardner, 1976a
Amiiformes		
Amiidae		
<i>Amia</i> sp.	2,3	Mirsky, Ris, 1951
<i>A. calva</i>	2,5	Оно, 1973
Lepidosteiformes		
Lepidosteidae		
<i>Lepidosteus ferox</i>	2,4	Hinegardner, 1976a
<i>L. productus</i>	2,8	Оно, 1973
<i>L. osseus</i>	2,2	Владыченская и др., 1983
Osteoglossiformes		
Notopteridae		
<i>Xenomystus nigri</i>	2,6	Hinegardner, Rosen, 1972
Osteoglossidae		
<i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	2,0	Те же
<i>Arapaima gigas</i>	2,0	»
Pantodontidae		
<i>Pantodon buchholzi</i>	1,5	»
Mormyriiformes		
Mormyridae		
<i>Marcusenius longianalis</i>	2,4	»
<i>M. nigricans</i>	2,0	»
<i>Gnathonemus petersi</i>	2,4	»
<i>Mormyrus kannume</i>	2,0	»
Elopiformes		
Elopidae		
<i>Elops saurus</i>	2,4	»
Anguilliformes		
Anguillidae		
<i>Anguilla anguilla</i>	1,9	Vendrely, 1955
<i>A. rostrata</i>	2,8	Hinegardner, Rosen, 1972
Muraenidae		
<i>Gymnothorax nigromarginatus</i>	5,0	Те же
<i>G. moringa</i>	4,8	»

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Clupeiformes		
Engraulidae		
<i>Anchovia delicatissima</i>	3,8	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Engraulis mordax</i>	3,8	Те же
	3,0	Оно, 1973
Clupeidae		
<i>Pomolobus pseudoharengus</i>	2,8	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Alosa sapidissima</i>	2,6	Те же
<i>A. chrysochloris</i>	2,2	»
<i>Alosa</i> sp.	2,0	Mirsky, Ris, 1951
<i>Clupea harengus pallasii</i>	1,5	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>C. harengus</i>	2,0	Schmidtke et al., 1976a
<i>C. pallasii</i>	2,0	Оно, 1973
<i>Harengula sardinia</i>	2,0	Mirsky, Ris, 1951
<i>Sprattus sprattus</i>	2,3	Schmidtke et al., 1976a
Salmoniformes		
Salmonidae		
<i>Salvellinus fontinalis</i>	7,3	Те же
<i>Salmo irideus</i>	5,6	Ohno, Atkin, 1966
	5,8	Schmidtke et al., 1976a
<i>S. gairdneri irideus</i>	5,0	Shapiro, 1976
<i>S. trutta</i>	5,8	Schmidtke et al., 1976a
<i>Coregonus lavaretus widegreni</i>	5,8	Shapiro, 1976
<i>C. muksunaspius</i>	6,1	»
<i>C. fera</i>	6,8	Schmidtke et al., 1975
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	6,6	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>O. kisutch</i>	6,0	Те же
	6,3	Оно, 1973
<i>O. keta</i>	6,4	Hanham, Smith, 1979
<i>O. masu</i>	6,2	Наши данные
Osmeridae		
<i>Osmerus asperlanus</i>	1,4	Schmidtke et al., 1976a
<i>Hypomesus pretiosus</i>	1,4	Оно, 1973
Dallidae		
<i>Dallia pectoralis</i>	2,5	Beamish et al., 1971
Umbridae		
<i>Umbra limi</i>	5,4	Hinegardner, Rosen, 1972
	5,0	Beamish et al., 1971
<i>U. pygmaea</i>	4,8	Те же
<i>Novumbra hubbsi</i>	2,1	»
Esocidae		
<i>Esox lucius</i>	1,7	Vendřely, 1955
<i>E. americanus</i>	2,3—2,4	Beamish et al., 1971
<i>E. masquinongy</i>	2,6	Те же
<i>E. niger</i>	2,4	»
Argentinidae		
<i>Argentina silus</i>	1,7	Ebeling et al., 1971

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Bathylagidae		
Leuroglossus stilbius	3,4	Ebeling et al., 1971
Bathylagus wesethi	3,5	Те же
B. milleri	6,3	»
B. pacificus	6,4	»
Cypryniformes		
Characidae		
Gymnocorymbus ternetzi	4,2	Hinegardner, Rosen, 1972
Exodon paradoxus	3,4	Те же
Hemigrammus caudovittatus	3,4	»
H. ocellifer	3,4	»
Leporinus striatus	3,4	»
Aphyocharax rubropinnis	3,4	»
Methynnis hypsauchen	3,4	»
M. roosevelti	3,4	»
Serrasalmo sp.	3,2	»
Moenkhausia oligolepis	3,2	»
Hoplias malabaricus	2,8	»
Arnoldochthys spilopterus	2,4	»
Pyrrulina rachoviana	2,4	»
Chalceus macrolepidotus	2,2	»
Anostomidae		
Chilodus punctatus	3,2	»
Anostomus anostomus	2,8	»
Gasteropelecidae		
Carnegiella strigata	2,8	»
Gasteropelecus levis	2,8	»
Gymnotidae		
Sternopygus macrurus	2,0	»
Gymnotus carapo	2,0	»
Eigenmannia sp.	2,0	»
Apteronotidae		
Apteronotus albifrons	1,4	»
Cyprinidae		
Tinca tinca	2,2	Wolf et al., 1969
	1,6	Mauro, Michelli, 1979
	1,7	Mirsky, Ris, 1951
Danio malabaricus	4,4	Hinegardner, Rosen, 1972
Brachydanio rerio	3,6	Те же
Rutilus rutilus	2,0	Wolf et al., 1969
Carassius auratus	3,4	Pedersen, 1971
	3,4	Mauro, Michelli, 1979
	3,8	Ohno et al., 1967
	3,9	Wolf et al., 1969
	4,0	Hinegardner, Rosen, 1972
Cyprinus carpio	3,4	Те же
	3,8	Wolf et al., 1969
	3,6	Ohno et al., 1967
	3,8	Mauro, Michelli, 1979
	3,5	Mirsky, Ris, 1951

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
<i>Chela mouchoti</i>	3,2	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Leuciscus idus</i>	3,0	Те же
<i>L. cephalus</i>	2,5	Mauro, Michelli, 1979
	2,8	Wolf et al., 1969
<i>Labeo bicolor</i>	2,6	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Morulus chrysophekadion</i>	2,4	Те же
<i>Garra talmiata</i>	2,2	»
<i>Pimephales notatus</i>	2,4	»
<i>Scardinius erythrophthalmus</i>	1,9	Mauro, Michelli, 1979
<i>Alburnus alburnus</i>	2,8	Те же
<i>Barbus barbus</i>	3,7	»
	3,6	Wolf et al., 1969
	3,4	Vendrey, 1955
<i>B. titteya</i>	2,4	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>B. schwanenfeldi</i>	2,2	Те же
<i>B. fasciatus</i>	1,5	Оно, 1973
<i>B. sachsi</i>	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>B. everetti</i>	2,0	Те же
<i>B. conchonus</i>	1,9	»
<i>B. tetrazona</i>	1,9	»
	1,4	Wolf et al., 1969
<i>Balantiocheilus melanopterus</i>	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Abramis brama</i>	2,6	Wolf et al., 1969
Cobitidae		
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	2,8	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>M. fossilis</i>	4,8	Тимофеева, Кафиани, 1964
<i>Acanthopthalmus kuhlii</i>	2,4	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Botia</i> sp.	1,7	Те же
Gyrinocheilidae		
<i>Gyrinocheilus aymonieri</i>	1,3	»
Siluriformes		
Ictaluridae		
<i>Ictalurus nebulosus</i>	2,4	»
<i>I. punctatus</i>	2,1	Оно, 1973
Bagridae		
<i>Auchenoglanis</i> sp.	2,2	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Bagrus dolmac</i>	2,2	Те же
<i>Parauchenoglanis guttatus</i>	2,2	»
<i>Leiocassis poecilopterus</i>	1,9	»
Siluridae		
<i>Cryptopterus bicirrhis</i>	1,8	»
Schilbeidae		
<i>Eutropius grenfelli</i>	2,0	»
<i>Schilbe marmoratus</i>	2,0	»
Clariidae		
<i>Clarias mossambicus</i>	2,4	»
<i>C. batrachus</i>	2,4	»
<i>C. lazera</i>	2,4	»
Malapteruridae		
<i>Malapterurus electricus</i>	2,0	»

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Mochocidae		
Synodontis nigriventris	2,2	Hinegardner, Rosen, 1972
Synodontis sp.	2,4	Те же
S. schall	2,2	»
Ariidae		
Galeichthyes felis	5,0	»
Bagre marinus	4,8	»
Doradidae		
Acanthodoras spinosissimus	3,2	»
Pimelodidae		
Pimelodus clarias	2,4	»
Pimelodella gracilis	1,8	»
Callichthyidae		
Corydoras aeneus	8,8	»
C. julii	8,4	»
C. melanistius	6,0	»
C. undulatus	6,0	»
C. punctatus	5,8	»
C. elegans	6,0	»
C. myersi	4,6	»
Callichthys callichthys	3,4	»
Loricariidae		
Otocinclus affinis	4,2	»
Hypostomus plecostomus	4,2	»
Xenocara dolichoptera	3,6	»
Loricaria parva	3,2	»
Amiuridae		
Amiurus nebulosus	1,9	Mirsky, Ris, 1951
Myctopiformes		
Synodontidae		
Synodus lucioceps	2,4	Hinegardner, Rosen, 1972
	2,5	Ebeling et al., 1971
S. foetens	2,4	Те же
Neoscopelidae		
Scopelengus tristis	2,6	»
Myctophidae		
Triphoturus mexicanus	3,8	»
Lampanyctus ritteri	4,0	»
Parvilux ingens	3,9	»
Gadiformes		
Merlucciidae		
Merluccius productus	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
M. bilinearis	1,9	Те же
Gadidae		
Microgadus proximus	1,8	»
Ophidiidae		
Otophidium welshi	1,7	»
O. scrippsi	1,4	»

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Batrachoidiiformes		
Batrachoididae		
Opsanus beta	6,0	Hinegardner, Rosen, 1972
O. tau	5,6	Те же
Porichthys notatus	4,4	»
P. porosissimus	3,4	»
Lophiiformes		
Lophiidae		
Lophius americanus	2,0	»
Antennariidae		
Antennarius ocellatus	1,6	»
Ogcocephalidae		
Ogcocephalus nasutus	1,5	»
Oneroididae		
Oneroides acanthias	2,0	Ebeling et al., 1971
Atheriniformes		
Exocoetidae		
Hyporhamphus unifasciatus	2,2	Hinegardner, Rosen, 1972
Dermogenys pusillus	1,5	Те же
Belonidae		
Strongylura exilis	2,2	»
S. marinus	2,4	»
Potamorhaphis guianensis	2,4	»
Cyprinodontiformes		
Oryziatidae		
Oryzias latipes	2,2	»
Cyprinodontidae		
Cyprinodon variegatus	3,2	»
Fundulus heteroclitus	3,0	»
F. majalis	2,8	»
Rivulus urophthalmus	3,0	»
Aphyosemion coeruleum	2,4	»
Aplocheilichthys panchax	1,4	»
Poeciliidae		
Poecilia latipinna	1,9	»
	1,6—1,9	Rash et al., 1970
P. formosa	1,6	Те же
	1,3—1,8	»
P. formosa (3n)	2,2—2,7	»
P. latipunctata	1,7—1,8	»
P. mexicana	1,6—1,9	»
P. reticulata	1,5	Cimino, 1974.
P. sphenops	1,7	Rash et al., 1965
	1,8—1,9	Те же
P. vittata	1,9	»
Poecilopsis latideus	1,3	Cimino, 1974
P. lucida	1,4	»
P. monacha	1,3	»
P. occidentalis	1,4	»
Xiphophorus maculatus	1,9	Hinegardner, Rosen, 1972

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
<i>X. helleri</i>	1,9 1,6 1,4	Hinegardner, Rosen, 1972 Оно, 1973 Cimino, 1974
<i>Gambusia affinis holbrooki</i>	1,7	Hinegardner, Rosen, 1972
Atheriniformes		
Melanotaeniidae		
<i>Melanotaenia nigrans</i>	2,6	Те же
<i>M. fluviatilis</i>	2,6	»
Atherinidae		
<i>Atherinops affinis</i>	2,2	»
Beryciformes		
Holocentridae		
<i>Holocentrus ascensionis</i>	1,8 1,3	» Mirsky, Ris, 1951
Gasterosteiformes		
Gasterosteidae		
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	1,4	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Eucalia inconstans</i>	1,3	Те же
<i>Apeltes quadracus</i>	1,2	»
Sygnathidae		
<i>Hyppocampus erectus</i>	1,3	»
<i>Sygnathus fuscus</i>	1,3	»
<i>S. floridae</i>	1,3	»
Aulostomatidae		
<i>Aulostomus maculatus</i>	1,4	Mirsky, Ris, 1951
Channiformes		
Channidae		
<i>Ophiocephalus obscurus</i>	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
Scorpaeniformes		
Scorpenidae		
<i>Scorpaena brasilensis</i>	2,8	Те же
<i>Sebastodes dalli</i>	2,2	»
<i>S. penniger</i>	1,9	»
<i>S. paucispinis</i>	1,9	»
Hexagrammidae		
<i>Hexagrammus decagrammus</i>	1,7	»
Anoplomatidae		
<i>Anoploma fimbria</i>	1,7	»
Zaniolepididae		
<i>Zaniolepis latipinnis</i>	1,9	»
Triglidae		
<i>Prionotus carolinus</i>	2,0	»
<i>P. scitulus</i>	1,6	»
Cottidae		
<i>Phamphocottus richardsoni</i>	2,2	»
<i>Hemitripterus americanus</i>	1,9	»
<i>Myoxocephalus octodecimspi-</i> <i>nosus</i>	1,9	»
<i>Clinocottus analis</i>	1,9	»

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Icelidae		
<i>Icelinus filamentosus</i>	1,8	Hinegardner, Rosen, 1972
Agnidae		
Неопределенный вид	1,5	Те же
Perciformes		
Serranidae		
<i>Epinefelus striatus</i>	2,6	»
	2,1	Mirsky, Ris, 1951
<i>E. morio</i>	2,6	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>E. guttatus</i>	2,4	Те же
	2,1	Mirsky, Ris, 1951
<i>Mycteroperca tigris</i>	2,6	Hinegardner, Rosen, 1972
	2,2	Mirsky, Ris, 1951
<i>M. intestinalis</i>	2,4	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Paralabrax nebulifer</i>	2,6	Те же
<i>Petrometopon cruentatus</i>	2,4	»
<i>Centropistes striatus</i>	2,4	»
<i>Cephalopholis fulvus</i>	2,4	»
	2,0	Mirsky, Ris, 1951
<i>Dermatolepis inermis</i>	2,4	Hinegardner, Rosen, 1972
Centrarchidae		
<i>Lepomis cyanellus</i>	2,2	Ohno, Atkin, 1966
Perchichthyidae		
<i>Morone saxatilis</i>	1,8	Hinegardner, Rosen, 1972
Priacanthidae		
<i>Priacanthus arenatus</i>	2,2	Те же
Percidae		
<i>Perca flavescens</i>	2,4	»
<i>P. fluviatilis</i>	1,9	Vendrely, 1955
Branchiostegidae		
<i>Caulolatilus princeps</i>	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
Pomatomidae		
<i>Pomatomus saltatrix</i>	1,9	Те же
Rachycentridae		
<i>Rachycentron canadum</i>	1,5	»
Echeneidae		
<i>Echeneis naucrates</i>	1,4	»
Carangidae		
<i>Trachinotus falcatus</i>	1,7	»
<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	1,6	»
<i>Caranx hippos</i>	1,4	»
Lutjanidae		
<i>Lutjanus bastingi</i>	2,1	Mirsky, Ris, 1951
<i>L. campechanus</i>	2,8	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>L. griseus</i>	2,6	Те же
	2,1	Mirsky, Ris, 1951
<i>Ocyurus chrysurus</i>	2,6	Hinegardner, Rosen, 1972
	2,1	Mirsky, Ris, 1951
<i>Etelis oculatus</i>	1,9	Hinegardner, Rosen, 1972
Gerridae		
<i>Eucinostomus gula</i>	1,6	Те же

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Pomadasyidae		
Haemulon plumieri	2,0	Hinegardner, Rosen 1972
H. flavolineatum	1,8	Те же
	1,3	Mirsky, Ris, 1951
H. sciurus	1,7	Hinegardner, Rosen, 1972
	1,2	Mirsky, Ris, 1951
H. melanurum	1,7	Hinegardner, Rosen, 1972
Orthoprists chrysoptera	1,7	Те же
Sparidae		
Stenotomus chrysops	2,0	»
Diplodus argenteus	1,9	»
D. holbrooki	1,9	»
Calamus calamus	1,9	»
	2,2	Mirsky, Ris, 1951
Sciaenidae		
Pogonias cromis	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
Micropogon undulatus	1,6	Те же
Menticirrhus americanus	1,6	»
Cheilotrema saturnum	1,6	»
Bairdiella chrysura	1,5	»
Monodactylidae		
Monodactylus argenteus	1,8	»
Kyphosidae		
Girella nigricans	2,2	»
Medialuna californiensis	1,6	»
Ephippidae		
Chaetodipterus faber	1,9	»
Scatophagidae		
Scatophagus argus	1,5	»
Chaetodontidae		
Chaetodon ocellatus	1,7	»
Embiotocidae		
Embiotoca jacksoni	2,0	»
Phanerodon furcatus	1,7	»
Zalembeus rosaceus	1,6	»
Rhacochilus vacca	1,6	»
Cymatogaster aggregata	1,5	»
Cichlidae		
Cichlasoma meeki	2,8	»
C. biocellatum	2,6	»
Tilapia leucosticta	2,4	»
T. nilotica	2,4	»
T. zillii	2,4	»
Aequidens portalegrensis	2,4	»
Geophagus jurupari	2,4	»
Pterophyllum eimekei	2,4	»
Haplochromis quiarti	2,0	»
H. parvidens	2,4	»
H. squamulatus	2,4	»
H. longirostris	2,2	»

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пт/2С	Автор, год
<i>H. squamipinnus</i>	2,2	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Crennicichla saxatilis</i>	2,2	Те же
<i>Apistogramma</i> sp.	2,0	»
<i>Pelmatochromis kribensis</i>	2,0	»
<i>Symphysodon aequifasciata</i>	2,5	Ohno, Atkin, 1966
Pomacentridae		
<i>Chromis chromis</i>	2,4	Alvarez et al., 1980
<i>Chromis</i> sp.	2,2	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Abudefduf saxatilis</i>	2,0	Те же
Mugilidae		
<i>Mugil cephalus</i>	2,0	»
<i>M. curema</i>	1,4	Mirsky, Ris, 1951
Sphyraenidae		
<i>Sphyraena borealis</i>	2,4	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>S. argentia</i>	1,7	Те же
<i>S. barracuda</i>	1,4	Mirsky, Ris, 1951
Labridae		
<i>Thalassoma bifasciatum</i>	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Tautoga onitis</i>	1,9	Те же
<i>Tautoglabrus adspersus</i>	1,8	»
Scaridae		
<i>Pseudoscarus quacamaia</i>	2,5	Mirsky, Ris, 1951
<i>Sparisoma viride</i>	4,2	Hinegardner, Rosen, 1972
<i>Scarus vetula</i>	3,8	Те же
<i>S. chroicensis</i>	2,6	Mirsky, Ris, 1951
Sparisomidae		
<i>Sparisoma brachiale</i>	2,5	Те же
Bathymasteridae		
<i>Rathbunella</i> sp.	1,9	Hinegardner, Rosen, 1972
Blenniidae		
Неопределенный вид	2,0	Те же
	1,6	»
<i>Hysoblennius</i> sp.	1,9	»
<i>Hysoblennius hentz</i>	1,7	»
<i>Blennius ponticus incognitus</i>	1,6	Cano et al., 1982
<i>B. sanguinolentus</i>	1,8	Те же
<i>B. pavo</i>	1,1	»
<i>B. ocellaris</i>	1,7	»
<i>B. gattorugine</i>	1,2	»
<i>B. sphinx</i>	1,2	»
<i>B. phoelis</i>	1,6	»
<i>B. trigloides</i>	2,4	»
Clinidae		
<i>Paraclinus</i> sp.	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
Stichaeidae		
<i>Cebedichthys violaceus</i>	1,6	Те же
Gobiidae		
<i>Gobius sadanundio</i>	2,8	»
Неопределенный вид	2,8	»
<i>Typhlogobius californiensis</i>	2,4	»

Таблица 6 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Scombridae		
Scomberomorus sp.	2,2	Hinegardner, Rosen, 1972
S. cavalla	1,9	Те же
Euthynnus pelamis	2,0	»
Scomber scombrus	1,9	»
Sarda sarda	1,8	»
S. velox	1,8	»
Xiphiidae		
Xiphias gladius	1,8	»
Stromateidae		
Peprilus simillimus	1,6	»
Poronotus triacanthus	1,6	»
Belontiidae		
Betta splendens	1,3	»
Macropodus cupanus dayi	1,2	»
M. opercularis	1,2	»
Helostomatidae		
Helostoma rudolfi	1,8	»
Osphroneidae		
Trichogaster leeri	1,6	»
T. trichopterus	1,6	»
T. trichopterus (opaline)	1,4	»
Colisa lalia	1,2	»
Mastacembelidae		
Macrognathus sp.	1,5	»
Acanthuridae		
Acanthurus hepatus	1,4	Mirsky, Ris, 1951
Pleuronectiformes		
Bothidae		
Etropus crossotus	2,0	Hinegardner, Rosen, 1972
Citharichthys sordidus	1,9	Те же
Paralichthys californicus	1,6	»
Xystreureys liolepis	1,5	»
	1,6	Оно, 1973
Pleuronectidae		
Microctomus pacificus	1,9	Hinegardner, Rosen, 1972
Glyptocephalus zachirus	1,7	Те же
Eopsetta jordani	1,5	»
Lyopsetts exilis	1,5	»
Pseudopleuronectes americana-	1,4	»
nus	1,6	Pedersen, 1971
Parophrys vetulus	1,3	Hinegardner, Rosen, 1972
Pleuronichthys verticalus	1,3	Те же
Soleidae		
Trinectes maculatus	1,3	»
Cynoglossidae		
Symphurus atricauda	2,2	»
Tetraodontiformes		

Таблица 6 (окончание)

Вид	пг/2С	Автор, год
Balistidae		
Balistes sp.	1,4	Hinegardner, Rosen, 1972
B. capriscus	1,1	Mirsky, Ris, 1951
Stephanolepis hispidis	1,4	Hinegardner, Rosen, 1972
Aleutera schoepfii	1,3	Те же
Ostraciontidae		
Lactophrys triqueter	2,2	»
L. trigonis	1,7	»
L. quadricornis	1,9	Mirsky, Ris, 1951
Tetraodontidae		
Spheroides maculatus	1,0	Hinegardner, Rosen, 1972
S. nephelus	1,0	Те же
Tetraodon palembangensis	1,0	»
T. fluviatilis	0,8	»
Diodontidae		
Chilomycterus schoepfii	1,8	»

Несколько интересных корреляций можно отметить между содержанием ДНК и эволюцией видов. Ископаемые *Squatina* или формы, очень сходные с ними, известны с верхней юры. Этот очень консервативный род характеризуется наибольшим размером генома. Зубы разнозубообразных акул (*Heterodontiformes*) находят с середины того же периода, и эти находки указывают на то, что современные виды этого рода мало изменились за 150 млн. лет. Изученный вид этого рода имеет размер генома, лишь ненамного уступающий таковому *Squatina*. С другой стороны, пилорыбообразные скаты *Pristiformes* являются очень специализированными и характеризуются (по крайней мере один вид) минимальной для подкласса *Elasmobranchii* величиной генома [Hinegardner, 1976a]. Эти данные находятся в согласии с гипотезой, впервые высказанной Мирски и Рисом [Mirsky, Ris, 1951], о том, что более специализированные формы обладают меньшим геномом. Однако некоторые другие данные не согласуются с этой гипотезой [Stingo, 1979].

3. Костные рыбы Osteichthyes

Подкласс лопастеперые Sarcopterigii

К подклассу Sarcopterigii относятся кистеперые Crossop-
terigii и двоякодышащие Dipnoi. Кистеперые были самыми
многочисленными из костных рыб девона. По-видимому, они
стоят близко к предкам двоякодышащих рыб и, что заслу-
живает особого внимания, от них произошли земноводные
и весь ствол наземных позвоночных. С этой точки зрения
очень интересно было сравнить размеры геномов предста-
вителей этих весьма своеобразных групп. Из всех кистеперых
до наших дней сохранился один из видов целокантов — *Lati-
meria chalumnae*. Диплоидный геном этого вида содержит
13—14 пг [Thompson et al., 1973; Cimino, Bahr, 1974].
Это немногим больше, чем в среднем содержат хрящевые
рыбы, но значительно больше, чем содержат костистые рыбы
(см. ниже). Что же касается двоякодышащих рыб, то, как
оказалось, они являются рекорсменами среди животного
царства по количеству клеточной ДНК (вместе с некоторыми
хвостатыми амфибиями): у *Neoceratodus forsteri* — 160 пг
[Pedersen, 1971], у *Lepidosiren paradoxa* — 241—248 пг
[Ohno, Atkin, 1966; Pedersen, 1971], у *Protopterus aet-
hiopicus* — 284 пг [Pedersen, 1971].

Предки двоякодышащих рыб, по-видимому, увеличивали
размеры геномов исключительно путем тандемных дуплика-
ций [Оно, 1973], а не путем полиплоидии, так как число
хромосом у них обычно для костистых рыб ($2n=34-38$)
[Ohno, Atkin, 1966], но величина хромосом значительно
больше среднего для большинства животных. По мнению
же Томсона [Thomson, 1972], ранние палеозойские двояко-
дышащие имели размеры генома, клеток и ядер не бóльшие,
чем другие примитивные позвоночные. Эти размеры увели-
чивались позже, практически не сопровождаясь измене-
ниями самой группы (см. также: [Szarski, 1976]).

Подкласс лучеперые Actinopterygii

Этот подкласс объединяет около 20 тыс. видов. Длитель-
ная эволюция, продолжавшаяся не менее 320—350 млн. лет,
привела к большому разнообразию лучеперых. Ральф Хайн-
гарднер флуорометрическим методом исследовал содержание
ДНК в ядрах 275 видов из 21 отряда костистых рыб и срав-
нил полученные данные с числом хромосом, эволюционной
продвинутостью и некоторыми другими характеристиками Те-

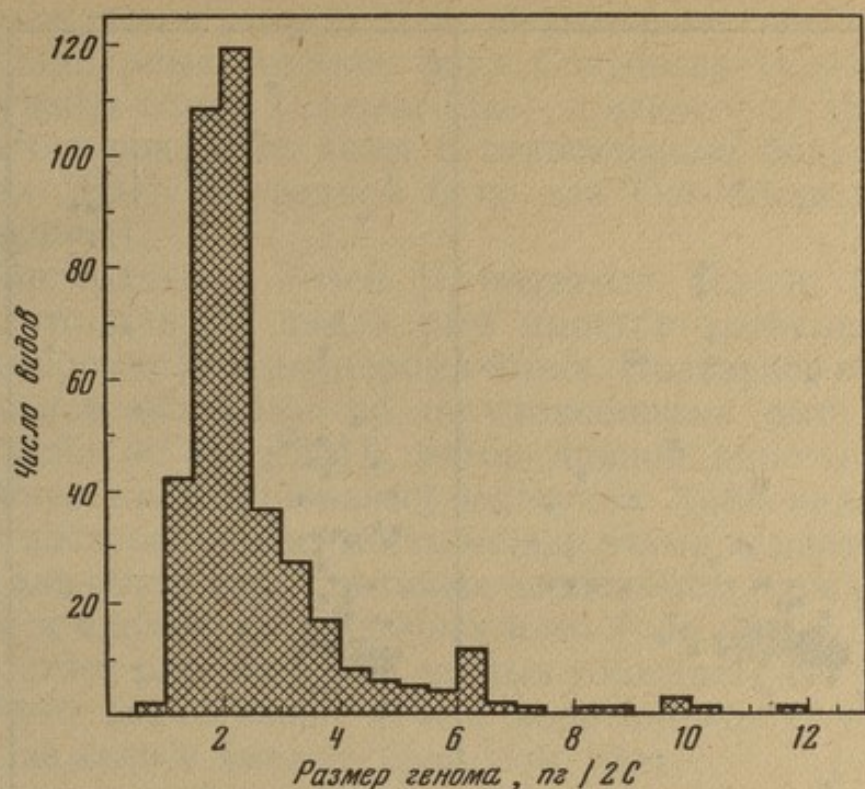


Рис. 11. Гистограмма размеров генома (пг/2С) у костистых рыб Teleostei. Около 80% видов имеют размер генома в пределах 1—3 пг, среднее значение для 400 видов — 2,2 пг

leostei [Hinegardner, 1968, 1976b; Hinegardner, Rosen, 1972].

В табл. 6, кроме данных Хайнгарднера и Розена, приведены результаты исследований генома еще 100 видов рыб, выполненных другими авторами. Поскольку систематика рыб еще далека от совершенства, а автор данной книги не ставил целью уточнение систематических взаимоотношений Teleostei, классификация рыб ниже отряда дана так, как она приводится в оригинальных работах. Классификация же рыб в таксонах выше отряда (надотряды, подклассы) дана согласно Т. С. Рассу и Г. У. Линдбергу [1971].

Данные табл. 6 представлены в виде гистограммы на рис. 11, где по оси абсцисс отложено диплоидное содержание ДНК в геноме, а по оси ординат — число видов, у которых найдено то или иное значение содержания ДНК. Из гистограммы видно, что костистые рыбы, несмотря на широкое разнообразие морфологических характеристик, позволяющих выделить почти 20 тыс. видов, характеризуются очень узким распределением по размерам генома. Достаточно сказать, что почти 80% изученных рыб имеют геном, величина которого лежит в пределах 1—3 пг, а 90% — в пределах 1—4 пг. Для сравнения можно указать, что распределение

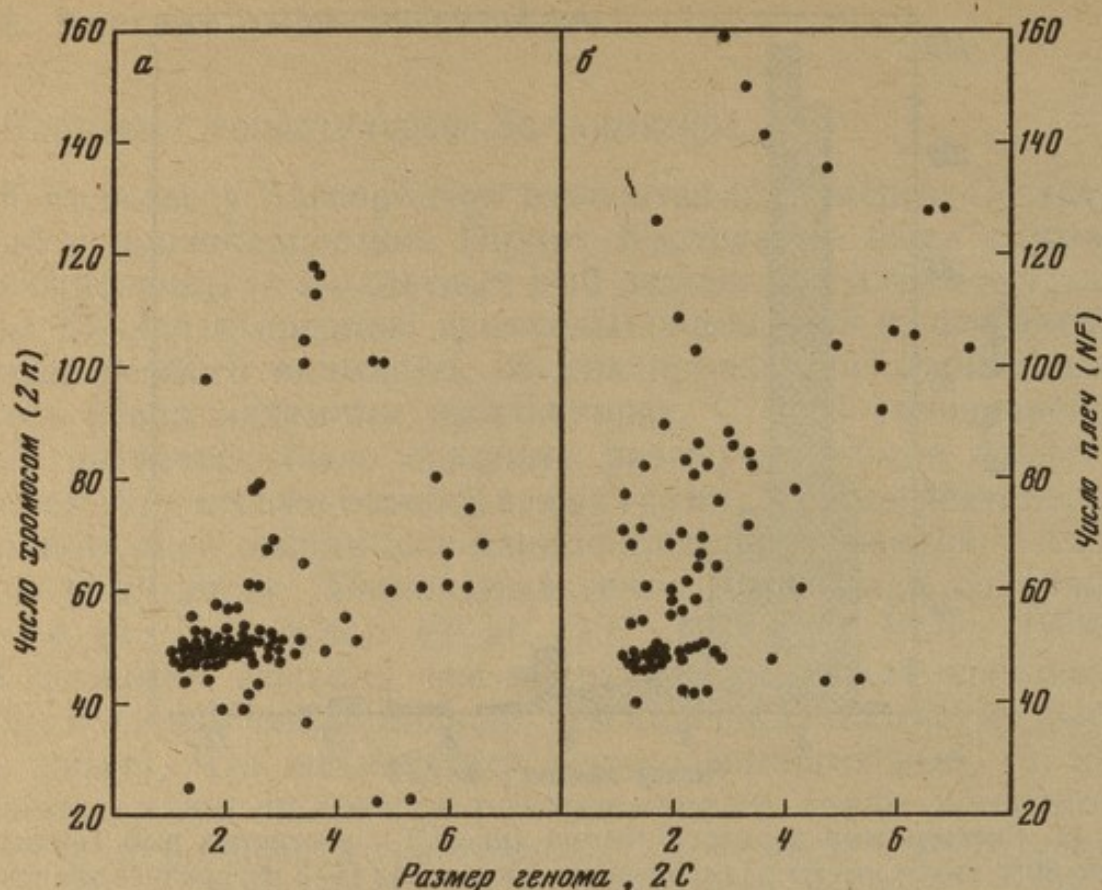


Рис. 12. Взаимоотношение между размером генома и числом хромосом (а), а также между размером генома и числом плеч хромосом (б) у костистых рыб Teleostei

размеров генома хрящевых рыб более широкое — от 5 до 20 пг, без выраженного максимума. Среднее значение диплоидного размера генома костистых рыб 2,2 пг.

На примере костистых рыб Хайнгарднер и Розен нашли очень много подтверждений гипотезе Мирски и Риса [Mirsky, Ris, 1951] о том, что более специализированные виды имеют меньший геном, чем более генерализованные (обобщенные). Под генерализованными видами авторы подразумевают виды, которые имеют большее количество морфологических черт, общих с другими видами таксона, а под специализированными — виды с наименьшим числом или даже с отсутствием некоторых общих черт по сравнению с другими родственными видами. Например, более специализированная сельдь *Clupea pallasii* имеет меньший геном, чем другие, более генерализованные виды сельдевых. Специализированные угреобразные *Gymnotidae*, близкие к харациновым, содержат в среднем 1,9 пг ДНК, а харациновые — 3,2 пг. Все карпообразные содержат больше ДНК в геноме, чем очень специализированный обитатель горных ручьев *Gyrinocheli*, и т. д. Становится ясным, что специализация

сопровождается утерей ДНК. Исключение составляют лишь виды панцирных сомов рода *Corydoras* (Callichthyidae), кольчужных сомов (Loricariidae), и некоторые другие, очень специализированные виды с относительно большим содержанием ДНК (в среднем 6 пг для *Corydoras* и 4 пг для Loricariidae).

Хайнгарднер и Розен [Hinegardner, Rosen, 1972] отмечают, что для 72 видов рыб имеется корреляция между числом хромосом и размером генома. Пользуясь недавно появившимися обзорами по цитотаксономии рыб [Васильев, 1980; Sola et al., 1981], автор данной работы попытался дополнить иллюстративный материал Хайнгарднера и Розена и построил зависимость между этими характеристиками почти для сотни видов, а также зависимость между размером генома и числом хромосомных плеч (рис. 12, а, б). Уже поверхностное рассмотрение данных убеждает, что размеры генома рыб значительно лучше коррелируют с числом плеч (NF), нежели с числом хромосом ($2n$).

Более подробное обсуждение значения увеличения размеров генома и его уменьшения у рыб будет дано в главе 7, после рассмотрения особенностей геномных характеристик других позвоночных.

Земноводных вместе с рыбами объединяют в группу анамний — первичноводных животных. Яйцо у них развивается в воде, личинка ведет водный образ жизни, и только после метаморфоза земноводные могут покинуть водную среду. Лишь у немногих земноводных возникают приспособления, обеспечивающие возможность развития яйца без воды. Для некоторых хвостатых амфибий характерны явления пedomорфоза и неотении. Вероятно, некоторые группы хвостатых амфибий, например сиреновые Sirenidae, протеи Proteidae и, возможно, амфиумовые Amphiumidae, представляют собой личинки каких-то саламандр, у которых в ходе эволюции исчезла взрослая фаза. Как раз эти семейства отличаются повышенным содержанием ДНК в клетках.

Земноводные — самый малочисленный класс современных позвоночных, насчитывающий 2,5 тыс. видов. Современные земноводные делятся на два подкласса: дугопозвонковые Apsidospondyli с одним отрядом — бесхвостые Anura (Salientia) и тонкопозвонковые Lepospondyli с двумя отрядами — хвостатые Urodela (Caudata) и безногие Apoda (Gymnophiona). Бесхвостые амфибии (лягушки и жабы) господствуют в фауне земноводных — 2100 видов во всех частях земного шара, а хвостатые (саламандры, протеи и тритоны) в количестве 280 видов заселяют в основном северное полушарие. Что же касается безногих, то эта весьма немногочисленная группа (60 видов) распространена во влажных тропиках и Старого и Нового Света.

§ 1. Структура генома

Кинетика реассоциации коротких фрагментов ДНК получена для 15 видов амфибий, из них только пять видов бесхвостых. Почти во всех случаях исследование структуры генома было простимулировано поражающими различиями в размерах генома между хвостатыми и бесхвостыми представителями этой группы животных и ставилась цель выяснить механизм амплификации ДНК у Urodela. В нашей лаборатории амфибии не изучались.

Балдари и Амалди [Baldari, Amaldi, 1976] получили кинетические кривые, используя фрагменты ДНК длиной 0,20—0,25 т. п. н., для двух представителей Ануга — шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* (3 пг ДНК на гаплоидный геном) и серой жабы *Bufo bufo* (7 пг) и для двух представителей Urodela — протей *Necturus maculosus* (52 пг) и тритона *Triturus cristatus* (23 пг). На кривых, приведенных этими авторами, четко выявляется сходство между ксенопусом и тритоном, с одной стороны, и жабой и протеем — с другой. Общий же профиль кривых сходен с кривыми, полученными для рыб. Например, кинетика реассоциации ДНК *Bufo* и *Necturus* напоминает таковую некоторых лососевых родов *Salmo* и *Coregonus* [Владыченская и др., 1976; Schmidtke et al., 1979b], а кинетика *Xenopus* и *Triturus* сходна с кинетикой реассоциации ДНК симы *O. masu*. Первые два вида содержат до 80% материала, реассоциирующего как повторяющиеся последовательности. Авторы выделяют три фракции повторов у этих видов: обращенные повторы и две промежуточные фракции с повторяемостью 10 и 5000 у жабы и 250 и 40 000 у протей (табл. 7). У второй пары видов (*Xenopus* и *Triturus*) авторы выделяют две фракции повторов: обращенные повторы и промежуточные повторы с повторяемостью 3000 и 12 000 у ксенопус и тритона соответственно. Данные не обрабатывались с помощью компьютера, и расчеты носят приблизительный характер. Более детальное исследование ДНК *Xenopus*, сделанное Дэвидсоном и соавторами [Davidson et al., 1973], выявило четыре фракции повторов: две небольшие фракции (по 6%) с повторяемостью 20 и 32 000 и «большой повторяющийся компонент», последовательности которого повторены 1600 раз.

Интересно, что обе бесхвостые амфибии содержат приблизительно одинаковое количество уникальных последовательностей: у *Xenopus* — 1,9 пг (3 пг $\times$ 0,63), у *Bufo* — 1,4 пг (7 пг $\times$ 0,20). Точно так же обе хвостатые амфибии содержат 11—12 пг уникальных последовательностей (52 пг $\times$ 0,23 и 23 пг $\times$ 0,47) (доля уникальных последовательностей приведена для этих видов в табл. 7).

Авторы отсюда делают выводы, что изменение содержания ДНК внутри обоих отрядов — Ануга и Urodela — происходило за счет изменения содержания повторов, а между отрядами — за счет всех типов последовательностей пропорционально. Изученные виды имеют сходные кариотипы, некоторые различия в числе хромосом возникали главным образом путем робертсоновских перестроек [Morescalchi, 1973].

Таблица 7. Структура генома амфибий

Вид	Частота повторности фракций	Доля в геноме	Автор, год
Urodela			
Proteidae			
Necturus maculosus (протей американский)	ОП	0,20	Baldari, Amaldi, 1976
	42 000	0,47	
	250	0,10	
	1	0,23	
	ОП	—	Straus, 1971
	7 000 000	0,14	
	50 000	0,54	
	330	0,20	
	1	0,12	
	ОП	0,17	Morescalchi, Serra, 1974
	1 000 000	0,06	
	100 000	0,50	
	1—1000	0,27	
Salamandridae			
Triturus cristatus (три-тон гребенчатый)	ОП	0,10	Baldari, Amaldi, 1976
	12 000	0,43	
	500	0,20	
	1	0,47	
	ОП	0,10	Morescalchi, Serra, 1974
	150 000	0,30	
	500	0,20	
	1	0,40	
Taricha torosa	ОП	0,10	Те же
	500 000	0,25	
	15 000	0,35	
	80	0,20	
	1	0,10	
T. rivularis	ОП	0,10	
	500 000	0,25	
	15 000	0,35	
	80	0,20	
	1	0,10	
Ambistoma tigrinum (амбистома тигровая)	ОП	0,06	Straus, 1971
	3 000 000	0,06	
	3500	0,37	
	50	0,27	
	1	0,24	
	ОП	0,05	Morescalchi, Serra, 1974
	40 000	0,30	
	4 000	0,40	
	1	0,25	

Таблица 7 (продолжение)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Plethodontidae (безлегочные саламандры)			
Plethodon cinereus	ОП	0,15	Mizuno, Macgregor, 1974
	6 000	0,30	
	150	0,15	
	1	0,40	
P. vehiculum	ОП	0,15	Те же
	15 000	0,40	
	300	0,20	
	1	0,20	
P. dunni	ОП	0,15	»
	15 000	0,40	
	300	0,25	
	1	0,20	
Desmognatus fuscus	ОП	0,35	Morescalchi, Serra, 1974
	50 000	0,30	
	300	0,25	
	1	0,10	
Amphiumidae			
Amphiuma means (амфиума)	ОП	0,12	Те же
	1 000 000	0,25	
	10 000	0,30	
	1—500	0,33	
Anura			
Pipidae			
Xenopus laevis (лягушка шпорцевая)	ОП	0,03	Davidson et al., 1973
	32 000	0,06	
	1 600	0,31	
	20	0,06	
	1	0,54	
	ОП	0,07	Baldari, Amaldi, 1976
	3 200	0,30	
	1	0,63	
Pelobatidae			
Scaphiopus couchii (лопатоног)	ОП	—	Straus, 1971
	5 400	0,04	
	100	0,24	
	1	0,60	
Bufonidae			
Bufo bufo (жаба серая)	ОП	0,20	Baldari, Amaldi, 1976
	5 000	0,50	
	10	0,10	
	1	0,20	
B. marinus (жаба ага)	ОП	0,07	Straus, 1971
	48 000	0,26	
	1 000	0,27	
	40	0,14	
	1	0,26	

Таблица 7 (окончание)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Ranidae			
Rana clamitans	ОП	0,02	Straus, 1971
(лягушка зеленая)	72 000	0,09	
	4 000	0,27	
	90	0,40	
	1	0,22	

Примечание. Данные Морескальки и Серры, Мизуно и Макгрегора [Mizuno, Macgregor, 1974; Morescalchi, Serra, 1974] рассчитаны исходя из графического материала авторов; ОП — обращенные повторы.

Другая группа амфибий изучалась в связи с вопросом о предполагаемой полинемности хромосом видов с большим количеством ДНК [Straus, 1971]. Если виды мало отличаются по числу хромосом, т. е. не образуют полиплоидной серии, но очень сильно отличаются по размерам генома, то можно предположить, что хромосомы видов с большим количеством ДНК содержат множество идентичных латеральных нитей. Если это так, то добавочные идентичные нити ДНК не должны вносить изменения в число и частоту повторения фракций, т. е. изменения в кинетическую характеристику ДНК [Straus, 1971]. Были изучены *Scaphiopus couchi* (гаплоидный геном 0,93 пг), *Bufo marinus* (4 пг), *Rana pipiens* (5,8 пг), *Rana clamitans* (6,2 пг) — все Анига, а также *Ambystoma tigrinum* (33 пг) и *Necturus maculosus* (78 пг). Анализ данных с помощью компьютера для *S. couchi* позволил выявить три компонента, реассоциирующие согласно кинетике второго порядка: две повторяющиеся фракции с частотой 5360 и 100, уникальную фракцию, составляющую 60% генома. $C_0t_{1/2}$ последней фракции равно 770. Значение $C_0t_{1/2}$ *E. coli* в условиях данного эксперимента равно 2,9. Тогда размер гаплоидного генома *S. couchi* в 770 раз больше и равен 1,2 пг, что очень близко к аналитически определенному значению его. Следовательно, уникальные по следовательности ДНК этого вида представлены однажды на гаплоидный геном.

Все остальные виды содержат менее 25% ДНК в составе самой медленной фракции (табл. 7), в связи с чем для точного определения $C_0t_{1/2}$ эту фракцию автор выделял паративно и измерял кинетику реассоциации чистой фракции. Во всех случаях (по крайней мере для Анига) оказалось, что

значение $C_0t_{1/2}$ очень близко к ожидаемому согласно известному размеру генома, т. е. медленная фракция является уникальной. Исходя из этого, автор отвергает гипотезу о полинеменности хромосом амфибий.

По данным Страуса [Straus, 1971], *Bufo* и *Rana* содержат быстро реассоциирующую (50—70 тыс. копий), промежуточную (1—4 тыс. копий) и медленную (40—72 копии) фракции повторов, а *Ambystoma* и *Necturus* — те же фракции, но с большими частотами повторяемости — $(3-7) \times 10^6$, $(3-50) \times 10^3$ и 50—300 соответственно. Кроме того, имеется небольшая фракция очень быстро реассоциирующих, по-видимому обращенных, повторов.

Структура генома восьми видов *Urodela* была исследована Морескальки и Серра [Morescalchi, Serra, 1974]. Кривые проведены через малое число экспериментальных точек, компьютерного анализа не проводилось. В табл. 7 приведены параметры кривых, рассчитанные нами исходя из иллюстративных данных авторов. Почти все виды содержат очень много повторов, более 70% генома. Точное значение их относительного содержания вычислить нелегко, так как снять кривую в области реассоциации уникальных последовательностей для видов с таким большим геномом в применяемых условиях реассоциации практически невозможно.

В целом можно отметить, что структура генома амфибий очень сходна с таковой лососевых и некоторых других рыб. Повторяющиеся последовательности гетерогенны по частоте повторяемости, их количество в среднем для 15 видов составляет 70%. Наименьшее относительное содержание повторов найдено у *Xenopus* и *Scaphiopus* — 30—40%, а наибольшее — у *Necturus*, *Taricha* и нескольких *Plethodontidae* (см. табл. 7).

Филогенетические взаимоотношения на уровне ДНК между видами с разным размером генома были изучены группой Макгрегора для саламандр родов *Plethodon* и *Aneides* [Mizuno, Macgregor, 1974; Mizuno et al., 1976; Macgregor, Jones, 1977].

Безлегочные саламандры семейства *Plethodontidae*, включающие очень примитивные роды, кладут яйца во влажную землю. Из икринок развиваются особи, очень похожие на миниатюрных взрослых особей. У них отсутствует водная личиночная стадия. Размеры генома западных (т. е. обитающих на западе Северной Америки) *Plethodon* значительно выше ($1C = 34-69$ пг), чем восточных (Восток США) (20—36 пг для крупных и 18—21 пг для мелких видов). Несмотря на это, кариотипы и западных и восточных видов очень

сходны и содержат по 28 почти неразличимых по длине мета- и субметацентрических хромосом. Гибридизация меченой РНК, комплементарной к повторяющейся ДНК *P. sinereus* (мелкий восточный вид), на мембранных фильтрах с ДНК восточных мелких видов показала более чем 80%-ный уровень гомологии последовательностей. Гибридизация этой же РНК с ДНК восточных крупных видов показала от 20 до 35% гомологии, а с ДНК западных видов — менее 10% гомологии. Если в качестве реперного вида брали *P. vehiculatum* (западный вид), то уровень гомологии с ДНК одного из западных видов был очень большой, сравнимый с уровнем гомологичной гибридизации. Уровень гомологии с ДНК другого западного вида меньше, а с ДНК всех восточных видов — не более чем 10%. Около 80% ДНК западных видов являются повторяющимися, это в 1,5 раза больше, чем у восточных видов. Уровень гомологии медленно реассоциирующей фракции был выше, чем повторов, для всех сравниваемых видов [Mizuno, Macgregor, 1974].

Сравнение промежуточных повторов *P. sinereus* (повторяемость около 6000) с тотальной ДНК других видов *Plethodon* показало, что «эволюционно стабильными общими» повторяющимися последовательностями являются менее 10% и что они практически отсутствуют у представителей таксонов выше трибы. Показано, что общие повторяющиеся последовательности у *Plethodon* не являются генами рРНК, 5S РНК, 4S РНК или их спейсерами [Mizuno et al., 1976].

Подобные же исследования ДНК видов другого рода семейства *Plethodontidae* — *Aneides*, также имеющих высокие размеры геномов (от 35 до 46 пг), показали, что саламандры одной и той же группы (здесь также имеются восточная и западная группы, по месту обитания в США) имеют до 25% общих повторяющихся последовательностей, а саламандры разных групп общих последовательностей практически не имеют [Macgregor, Jones, 1977].

Авторы отмечают, что эти результаты свидетельствуют в пользу предположения Оно [Ohno, 1972], что многие повторяющиеся последовательности не имеют функции, иначе их первичная структура сохранялась бы естественным отбором.

§ 2. Организация генома

Организация нуклеотидных последовательностей подробно изучена лишь для четырех видов — *Xenopus laevis*, *Bufo bufo*, *Necturus maculosus* и *Triturus cristatus* [Davidson et al., 1973, 1974; Baldari, Amaldi, 1976, 1977; Bozzoni, Beccari, 1978], менее подробно — для лягушек *Rana berlandieri* и *R. pipiens* [Graham, Schanke, 1980].

Xenopus laevis — один из первых видов эукариот, молекулярная организация которого была детально исследована [Davidson et al., 1973]. Методом совместной реассоциации фрагментов ДНК длиной 0,45 т. п. н. с мечеными фрагментами ДНК разной длины, от 0,2 до 3,7 т. п. н., было показано, что повторяющиеся последовательности *Xenopus* чередуются с неповторяющимися последовательностями с периодом около 1 т. п. н. Последовательностями с таким коротким периодом чередования (0,3 т. п. н. — повтор и 0,8 т. п. н. — уникальная последовательность) занято 50—55% генома. Другие 30% генома представлены последовательностями с длинным периодом чередования, равным 4—8 т. п. н. И наконец, оставшая часть генома, 15—20%, — это не чередующиеся в пределах 8 т. п. н. повторяющиеся и уникальные последовательности. Полученные данные были подтверждены с помощью электронной микроскопии [Chamberlin et al., 1975]. Организация генома *Xenopus laevis* совместно с организацией геномов трех других видов амфибий была изучена также Балдари и Амалди [Baldari, Amaldi, 1976]. Характер интерсперсии последовательностей, следующий из профилей реассоциации разных фрагментов ДНК, очень сильно напоминает распределение последовательностей в геномах большинства рыб. Дополнение этих данных результатами электронно-микроскопического исследования показало, что большая часть геномов амфибий составлена из чередующихся коротких повторяющихся и уникальных последовательностей [Baldari, Amaldi, 1977]. Длина повторяющихся последовательностей в ДНК всех видов, по данным электронной микроскопии, равняется 0,36—0,40 т. п. н., а уникальных последовательностей — 0,8—1,6 т. п. н. При этом отмечено сходство в длине уникальных последовательностей ДНК у *Xenopus* и *Triturus* (1,6 и 1,3 т. п. н. соответственно), с одной стороны, и в ДНК *Bufo* и *Necturus* (0,8—0,9 т. п. н.) — с другой, т. е. сходство наблюдается у представителей разных отрядов.

Для определения размеров повторяющихся последовательностей в геномах этих амфибий был применен также и метод гель-фильтрации дуплексов, устойчивых к действию S_1 -нуклеазы на реассоциаты [Davidson et al., 1974; Bozzoni, Bessari, 1978]. Длинные фрагменты ДНК (8—9 т. п. н.) реассоциировали до C_0t 25 и обрабатывали S_1 -нуклеазой ($DIG. = 0,95—0,98$). Дуплексы отделяли от продуктов деградации хроматографией на колонке с ГАП и фракционировали на колонке с биогелем А-50 m . Большая часть дуплексов имеет широкое распределение по размерам — от менее 0,1 до 1,5 т. п. н., среднее значение 0,3 т. п. н. Сопоставление приведенных данных с результатами аналогичного фракционирования дуплексов ДНК других позвоночных выявляет поразительное сходство распределения по размерам повторяющейся ДНК амфибий и симы *O. masu* (см. рис. 10, z) (дуплексы, полученные при $DIG. = 0,95$).

Расчеты показали, что количество длинных повторов (более 1,5 т. п. н.) увеличивается пропорционально увеличению размеров генома исследованных амфибий, а количество коротких повторов увеличивается в 4 раза при увеличении генома в 2 раза как у *Апуга*, так и у *Urodela* [Bozzoni, Bessari, 1978]. Что же касается уникальных последовательностей, то их содержание у представителей одного отряда одинаково (см. выше), но длина их у видов с большим геномом внутри отряда в 1,5 раза меньше [Baldari, Amaldi, 1977]. Получается некоторое несоответствие между числом коротких повторов и числом перемежающихся с ними коротких уникальных последовательностей. Причина, по-видимому, кроется в том, что количество коротких повторов, выявленное после S_1 -нуклеазного гидролиза реассоциатов, сильно завышено в связи с деградацией длинных дивергировавших или пермутированных повторов при жестких условиях переваривания, как, например, было продемонстрировано нами для ДНК симы. К сожалению, авторы не провели подобного эксперимента в мягких условиях гидролиза реассоциатов ДНК амфибий, поэтому трудно провести полное сравнение.

Кривые кинетики реассоциации фрагментов ДНК разной длины указывают также на большую степень рассеянности обращенных повторов среди других последовательностей. Более подробное исследование этого типа последовательностей в геноме *Xenopus laevis* [Perlman et al., 1976] показало, что они соседствуют практически со всеми типами последовательностей, встречаясь в среднем через каждые 25 т. п. н. ДНК. Количество обращенных повторов в ДНК *Xenopus*

Таблица 8. Организация генома амфибий

Вид	Общее содержание уникальных последовательностей, % генома	Доля коротких уникальных последовательностей, % фракции	Автор, год
Urodela			
Proteidae			
Necturus maculosus (протей американский)	12	50	Baldari, Amaldi, 1976, 1977
Salamandridae			
Triturus cristatus (тритон гребенчатый)	10	40	Те же
Anura			
Pipidae			
Xenopus laevis (лягушка шпорцевая)	38	70	Davidson et al., 1973; Baldari, Amaldi, 1976, 1977
Bufo			
Bufo bufa (жаба серая)	10	50	Baldari, Amaldi, 1976, 1977
Ranidae (настоящие лягушки)			
Rana berlandieri	?	70	Graham, Schanke, 1980
R. pipiens	?	70	Те же

составляет 10^5 , т. е. столько же, сколько у симы ($2C = 1,12 \cdot 10^5$) [Гинатулин, Гинатулина, 1979б].

Длина коротких повторов у *Rana berlandieri* составляет в среднем 250 п. н., уникальных последовательностей — 600—800 п. н. Соотношение длинных и коротких повторов приблизительно одинаковое. Грахем и Шанке [Graham, Schanke, 1980] исследовали организацию генома не только при 60°, но и при 75°C. При более высокой температуре инкубации дуплексы образуются только между идентичными последовательностями, а родственные, но не идентичные последовательности дуплексов не образуют.

Результаты S_1 -нуклеазной обработки реассоциатов, полученных при обоих значениях температуры, показали, что количество длинных дуплексов, элюирующихся в исключенном объеме из колонки с биогелем А-50m (более 1,5 т. п. н.), уменьшается с 40% при 60° до 10% при 75°. Количество коротких дуплексов изменялось при этом мало. Не изменялась и протяженность чередующихся с короткими повторами

уникальных последовательностей, оставаясь равной 600—800 п. н.

Авторы [Graham, Schanke, 1980] отмечают, что очень сходные результаты получены при исследовании ДНК другой лягушки — *Rana pipiens*, но не приводят результатов исследования ее генома в виде таблиц или иллюстраций.

В табл. 8, составленной аналогично табл. 5, приведены основные параметры организации генома амфибий. Видно, что независимо от размера 40—70% генома занимают уникальные последовательности, чередующиеся с повторами с коротким периодом. Сопоставляя данные табл. 5 и 8, можно сделать заключение, что организация геномов большей части из изученных до сих пор низших позвоночных (Апампия) — рыб и амфибий, а также ланцетника характеризуется коротким периодом интерперсии повторяющихся и уникальных последовательностей («Хепорус-тип»).

§ 3. Размер генома

В отношении размеров геномов амфибии являются наиболее интересной и своеобразной группой позвоночных. Клеточное содержание ДНК у них существенно выше, чем у других классов, а хвостатые амфибии вообще представляют собой в этом аспекте феноменальную группу наряду с двоякодышащими рыбами. Наибольший вклад в исследования содержания ДНК у амфибий внесли работы Олмо, Бахманна, Секссмита и др. (табл. 9).

1. Безногие Apoda

Изучены три вида (из 60), два из которых имеют близкие значения 2С (7—9 пг), сходные с таковыми Апуга, а третий вид, *Siphonops annulatus* — резко отличающееся, равное 28 пг, которое занимает промежуточное положение между значениями, типичными для Апуга и Urodela.

2. Хвостатые Urodela

Хвостатые амфибии характеризуются не только большой величиной генома, но и широкой межвидовой вариабельностью этой величины. Количество ДНК на ядро варьирует от 30 (семейство Hynobiidae, некоторые Plethodontidae) до 160 и более (Amphiuma, некоторые Proteidae). Среди Urodela имеются семейства с малой вариабельностью 2С, например Hynobiidae — 33—41 пг, и есть роды, например Plethodon,

Таблица 9. Размеры геномов амфибий

Вид	нг/2С	Автор, год
Apoda		
Caeciliidae		
Gymnopsis multiplicata proxima	7,4	Goin et al., 1967
Siphonops annulatus	27,9	Beçak et al., 1970
Geotrypetes seraphini occidentalis	9,4	Olmo, 1973
Urodela		
Hynobiidae		
Hynobius dunni	33,8	»
H. naevius	40,9	»
H. nebulosus	38,4	»
H. retardatus	38,3	»
H. tsuensis	33,0	»
Ambystomatidae		
Ambystoma annulatum	50,1	Olmo, 1974
A. laterale	105,0	Macgregor, Uzzell, 1964
A. texanum	48,3	Olmo, 1974
A. maculatum	88,0	Bachmann, 1970a
	52,4	Olmo, 1974
A. mexicanum	96,0	Løvtrup, 1959
	77,0	Conger, Clinton, 1973
	96,0	Edström, Kawiak, 1961
	43,7	Sexsmith, 1968
	76,0	Bachmann, 1970a
A. opacum	54,4	Sexsmith, 1968
	47,7	Olmo, 1974
A. tigrinum	57,0	Sexsmith, 1968
	55,0	Olmo, 1974
	83,0	Bachmann, 1970a
	85,3	Conger, Clinton, 1973
A. macrodactylum	52,3	Olmo, 1973
A. talpoideum	62,2	Olmo, 1974
A. jeffersonianum (3n)	99,0	»
Plethodondidae		
Desmognathus fuscus	36,0	Conger, Clinton, 1973
	36,0	Bachmann, 1970a
	30,2	Olmo, 1974
D. monticola	20,0	Goin et al., 1968
	36,0	Bachmann, 1970a
D. ochrophaeus	36,0	»
D. quadramaculatus	44,0	»
Ensatina eschscholtzii picta	62,2	Sexsmith, 1968
E. eschscholtzii	84,3	Olmo, 1974
Eurycea lucifuga	42,1	»
E. bislineata	71,0	Bachmann, 1970a
	41,5	Olmo, 1974
	74,0	Conger, Clinton, 1973

Таблица 9 (продолжение)

Вид	пр/2С	Автор, год
<i>Eurycea longicauda</i>	52,2	Olmo, 1974
<i>Gyrinophilus danielsi</i>	20,0	Goin et al., 1968
	44,5	Olmo, 1974
<i>G. porphyriticus dunni</i>	49,7	»
<i>Plethodon cinereus</i>	49,3	Ohno, Atkin, 1966
	32,8	Sexsmith, 1968
	53,0	Bachmann, 1970a
	46,2	Olmo, 1974
	39,4	Sexsmith, 1968
<i>P. cinereus cinereus</i>	40,0	Mizuno, Macgregor, 1974
<i>P. elongatus</i>	50,7	Sexsmith, 1968
	67,6	Mizuno, Macgregor, 1974
<i>P. glutinosus</i>	43,0	Sexsmith, 1968
	45,0	Mizuno, Macgregor, 1974
	86,0	Bachmann, 1970a
	54,2	Olmo, 1974
<i>P. jordani</i>	72,0	Bachmann, 1970a
	46,2	Mizuno, Macgregor, 1974
<i>P. hoffmani</i>	42,8	Те же
<i>P. nettingi shenandoah</i>	36,4	»
<i>P. richmondi</i>	40,8	»
<i>P. neomexicanus</i>	61,4	»
<i>P. wehrlei</i>	40,6	»
<i>P. ouachitae</i>	67,4	»
<i>P. yonahlossee</i>	72,2	»
<i>P. vandykei</i>	138,6	»
<i>P. larselli</i>	95,2	»
<i>P. vehiculum</i>	73,6	»
<i>P. dunni</i>	77,6	»
<i>Pseudotriton montanus</i>	35,0	Sexsmith, 1968
<i>P. ruber</i>	48,7	Olmo, 1974
<i>Leurognathus marmoratus</i>	33,1	Olmo, Morescadchi, 1975
<i>Batrachoseps attenuatus</i>	84,0	Olmo, 1974
<i>Aneides aeneus</i>	86,4	»
	90,4	Macgregor, Jones, 1977
<i>A. lugubris</i>	85,7	Olmo, Morescalchi, 1975
	85,6	Macgregor, Jones, 1977
<i>A. hardii</i>	70,4	Те же
<i>A. flavipunctatus</i>	92,0	»
<i>A. ferreus</i>	88,4	»
Amphiumidae		
<i>Amphiuma means</i>	168,0	Mirsky, Ris, 1951
	129,6	Sexsmith, 1968
	189,0	Gall, 1968
	192,0	Bachmann, 1970a
	149,9	Olmo, 1974
	192,8	Conger, Clinton, 1973
Cryptobranchidae		
<i>Megalobatrachus japonicus</i> (<i>Andrias japonicus</i>)	93,0	Olmo, 1974

Таблица 9 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Proteidae		
Necturus sp.	48,4	Mirsky, Ris, 1951
N. lewisi	181,8	Sexsmith, 1968
	270,0	Conger, Clinton, 1973
N. maculosus	165,1	Olmo, 1974
	136,0	Sexsmith, 1968
	189,0	Gall, 1968
	190,0	Brown, Dawid, 1968
	196,8	Conger, Clinton, 1973
N. punctatus	179,8	Sexsmith, 1968
	264,0	Conger, Clinton, 1973
Proteus anguinus	73,6	Sexsmith, 1968
	96,8	Olmo, 1974
	105,1	Conger, Clinton, 1973
Salamandridae		
Nothophthalmus viridescens	98,0	Swift, 1959
	89,0	Edstrom, Gall, 1963
	63,1	Sexsmith, 1968
	93,2	Conger, Clinton, 1973
	91,0	Gall, 1968
	86,0	Bachmann, 1970a
	69,6	Olmo, 1974
Pleurodeles waltlii	39,5	»
	29,5	Beçak et al., 1970
Salamandra atra	65,1	Olmo, 1973
S. salamandra	60,5	Sexsmith, 1968
	57,0	Ullerich, 1970
Taricha granulosa	59,1	Olmo, 1973
T. rivularis	59,8	Olmo, 1974
T. torosa	56,0	»
Triturus cristatus carnifex	43,6	»
	67,0	Edström, Gall, 1963
	58,1	Gall, 1968
T. cristatus cristatus	38,1	Olmo, 1974
T. cristatus	45,0	Walker, Yates, 1952
	50,4	Sexsmith, 1968
	52,5	Conger, Clinton, 1973
	28,5	Beçak et al., 1970
T. alpestris	51,8	Ullerich, 1970
	75,2	Conger, Clinton, 1973
T. vulgaris	48,9	Ullerich, 1970
	71,0	Conger, Clinton, 1973
Sirenidae		
Pseudobranchius striatus	90,8	Olmo, 1974
Siren intermedia	107,7	Olmo, 1973
S. lacertina	114,4	Olmo, 1974
Anura		

Таблица 9 (продолжение)

Вид	пр/2С	Автор, год
Ascaphidae		
<i>Ascaphus truei</i>	6,0	Sexsmith, 1968
	8,2	Macgregor, Kezer, 1970
<i>Leiopelma archeyi</i>	12,7	Sexsmith, 1968
Discoglossidae		
<i>Alytes obstetricans</i>	14,7	»
<i>Bombina bombina</i>	20,5	Bachmann, Nishioka, 1978
	16,8	Mazin, 1980
<i>B. bombina</i>	18,7	Sexsmith, 1968
	18,8	Ullerich, 1970
	20,6	Mazin, 1980
<i>B. variegata</i>	17,1	Ullerich, 1970
	17,5	Mazin, 1980
	21,1	Olmo, 1973
<i>Discoglossus pictus</i>	10,5	»
Pipidae		
<i>Xenopus tropicalis</i>	3,6	Thiebaud, Fischberg, 1977
<i>X. laevis</i>	6,3	Dawis, 1965
	6,0	Wallace, Birnstiel, 1966
	5,5	Sexsmith, 1968
	6,2	Olmo, 1973
<i>X. laevis laevis</i>	6,4	Thiebaud, Fischberg, 1977
<i>X. laevis petersi</i>	6,4	Те же
<i>X. laevis victorianus</i>	6,4	»
<i>X. gilli</i>	6,4	»
<i>X. fraseri</i>	6,4	»
<i>X. borealis</i>	7,1	»
<i>X. clivii</i>	8,5	»
<i>X. vestitus</i> (4n)	12,8	»
<i>Xenopus</i> sp. n. (4n)	12,6	»
<i>X. ruwenzoriensis</i> (6n)	16,3	»
<i>X. mülleri</i>	8,2	Olmo, 1973
	7,6	Thiebaud, Fischberg, 1977
<i>Pipa pipa</i>	4,9	Olmo, 1973
Pelobatidae		
<i>Pelodytes caucasicus</i>	4,0	Mazin, 1980
<i>Pelobates fuscus</i>	8,9	Sexsmith, 1968
	7,8	Mazin, 1980
	8,2	Olmo, 1973
<i>P. syriacus</i>	9,0	Olmo, Morescalchi, 1978
<i>Megophrys nasuta</i>	5,6	Olmo, 1973
<i>Scaphiopus bombifrons</i>	1,6	Sexsmith, 1968
	2,8	Bachmann, 1971
<i>S. couchii</i>	1,6	Sexsmith, 1968
	3,6	Bachmann, 1971
<i>S. hammondii</i>	1,9	Sexsmith, 1968
	3,8	Goin et al., 1968
	3,1	Bachmann, 1971
<i>S. holbrookii</i>	2,0	Sexsmith, 1968
	2,2	Goin et al., 1968

Таблица 9 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Rhinophrynidae		
Rhinophrynus dorsalis	7,4	Goin et al., 1968
	7,5	Те же
Leptodactylidae		
Adelotus brevis	4,2	Olmo, Morescalchi, 1978
Ceratophrys calcarata	3,8	Beçak et al., 1970
	5,5	Olmo, 1973
C. dorsata	12,7	Beçak et al., 1970
Cycloramphus asper	3,1	Те же
C. dubius	3,5	»
Cyclorana alboguttatus	5,7	Olmo, Morescalchi, 1978
Eleutherodactylus antillensis	6,5	Goin et al., 1968
	5,8	Те же
E. abbotti	7,3	»
	5,9	»
E. bakery heminota	5,1	Goin, 1968
	4,2	»
E. eneidae	5,5	»
E. gossei	3,8	»
E. martinicensis	3,9	»
E. pantoni	4,8	»
E. richmondi	6,1	»
	5,4	»
E. ricordii planirostris	7,0	»
Leptodactylus fuscus	4,9	Becak et al., 1970
L. ocellatus	3,0	Те же
Eupemphix nattereri	3,5	»
Limnodynastes dumerilii	6,5	Olmo, Morescalchi, 1978
L. tasmaniensis	4,3	Ullerich, 1967
L. ornatus	1,9	Olmo, Morescalchi, 1978
L. fletcheri	7,6	Olmo, 1973
L. terraereginae	3,9	Olmo, Morescalchi, 1978
L. peronii	4,5	Olmo, 1973
	2,6	Olmo, Morescalchi, 1978
Pleuroderra birbonii	5,1	Olmo, 1973
Uperoleia marmorata	4,1	»
Pseudophryne birbonii	17,5	Olmo, Morescalchi, 1978
Crinia signifera	4,2	Olmo, 1973
C. sioanei	3,7	»
Odontophrynus americanus	6,8	Beçak et al., 1970
O. carvalhoi	3,1	Те же
O. cultripes	4,1	»
O. occidentalis	3,1	»
Oocormus microps	3,8	»
Physalaemus fuscomaculatus	3,7	»
Pseudopalucicola ameghini	4,8	»
Stombus appendiculatus	4,3	»
S. boili	4,8	»

Таблица 9 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Bufo		
Bufo		
Bufo sp.	7,3	Mirsky, Ris, 1951
B. raddei	9,8	Mazin, 1980
B. alvarius	11,3	Bachmann, 1970b
B. americanus	7,4	Sexsmith, 1968
	9,6	Gall, 1968
	9,0	»
	12,7	Bachmann, 1970b
B. bufo	10,6	Ullerich, 1966
	14,6	Bachmann, 1970b
	15,5	Bachmann, 1971
	11,6	Olmo, 1973
	15,0	Bachmann, Nishioka, 1978
	14,8	Bachmann et al., 1978
B. bufo bufo	12,4	Mazin, 1980
B. bufo asiatica	11,2	»
B. bufo vericosissima	13,6	»
B. koyanoiensis	7,2	Olmo, 1973
B. calamita	6,2	Sexsmith, 1968
	7,1	Ullerich, 1966
	8,9	Griffin et al., 1970
B. cognatus	11,2	Bachmann, 1971
B. crucifer	6,3	Beçak et al., 1970
B. debilis	10,6	Bachmann, 1971
B. fowleri	8,0	Sexsmith, 1968
	14,2	Bachmann, 1970b
B. ictericus	5,8	Beçak et al., 1970
B. marinus	6,2	Goin et al., 1968
	6,6	Te же
	7,1	Ullerich, 1967
	8,7	Griffin et al., 1970
	11,3	Bachmann, 1970b
	10,9	Bachmann, 1971
B. paracnemis	6,6	Beçak et al., 1970
B. pardalis	13,7	Griffin et al., 1970
B. punctatus	10,6	Bachmann, 1971
B. quercicus	5,4	Goin et al., 1968
B. regularis	8,9	Bachmann, 1970b
B. retiformis	13,4	»
B. terrestris	6,2	Goin et al., 1968
	6,2	Te же
	6,7	Sexsmith, 1968
	11,1	Bachmann, 1970b
	10,9	Bachmann, 1971
	11,0	Bachmann, Blommer-Schlös ser, 1975
B. valliceps	9,2	Bachmann, 1970b
B. viridis	12,9	Sandritter et al., 1960
	8,8	Mazin, 1980

Таблица 9 (продолжение)

Вид	пт/2С	Автор, год
	7,6	Ullerich, 1966
	9,9	Olmo, 1973
<i>B. v. turanensis</i> (4n)	23,4	Bachmann et al., 1978
<i>B. viridis turanensis</i>	13,3	Те же
<i>B. viridis arabicus</i>	11,7	»
<i>B. viridis viridis</i> (Измир)	10,9	Bachmann et al., 1978
<i>B. viridis</i> ssp. (о-в Корсика)	11,4	Те же
<i>B. viridis viridis</i> (ФРГ)	11,8	»
<i>B. viridis boulengeri</i>	12,1	»
<i>B. brongersmai</i>	11,4	Те же
<i>B. latastii</i>	16,0	»
<i>B. calamita</i>	11,0	»
<i>Melanophryniscus moreirae</i>	5,9	Beçak et al., 1970
Atelopodidae		
<i>Atelopus</i> sp.	5,5	Goin et al., 1968
Hylidae		
<i>Acris gryllus</i>	6,8	Sexsmith, 1968
<i>A. gryllus dorsalis</i>	6,8	»
	5,7	Goin et al., 1968
<i>A. crepitans</i>	8,2	Olmo, 1973
<i>Gastrotheca</i> sp.	7,3	Goin et al., 1968
<i>Hyla albomaryinata</i>	5,2	Beçak et al., 1970
<i>H. japonica</i>	8,0	Mazin, 1980
<i>H. arborea</i>	7,8	Ullerich, 1970
	4,8	Olmo, Morescalchi, 1978
	8,8	Mazin, 1980
<i>H. brunnea</i>	2,8	Goin et al., 1968
	3,3	Те же
<i>H. cinerea</i>	6,5	»
	8,4	»
<i>H. crepitans</i>	7,4	»
<i>H. crucifer bartramiana</i>	5,3	»
	7,1	»
	6,3	»
<i>H. faber</i>	5,5	Beçak et al., 1970
<i>H. femoralis</i>	6,3	Goin et al., 1968
<i>H. fuscomarginata</i>	4,5	Beçak et al., 1970
<i>H. geographica</i>	5,0	Goin et al., 1968
<i>H. heilprini</i>	5,8	Те же
<i>H. multilineata</i>	7,4	Beçak et al., 1970
<i>H. nana</i>	3,8	Те же
<i>H. acularis</i>	7,1	Goin et al., 1968
<i>H. parkeri</i>	4,6	Beçak et al., 1970
<i>H. polytaenia</i>	4,7	Те же
<i>H. pulchella prasina</i>	10,3	»
<i>H. regula</i>	5,9	Goin et al., 1968
	5,2	Те же
<i>H. serpentronalis</i>	3,0	»
	2,3	»

Таблица 9 (продолжение)

Вид	пт/2С	Автор, год
<i>H. squirella</i>	7,2	Goin et al., 1968
	7,9	Bachmann, Nishioka, 1978
<i>H. vasta</i>	3,9	Те же
<i>H. bicolor</i>	9,6	Olmo, 1973
<i>H. gratiosa</i>	12,9	Bachmann, Blommer-Schlösser, 1975
<i>Phyllomedusa bicolor</i>	11,1	Goin et al., 1968
<i>Pseudacris brimleyi</i>	6,8	Те же
<i>P. nigrita</i>	6,2	»
	5,2	»
<i>P. ornata</i>	5,9	»
	5,2	»
<i>P. triseriata</i>	6,7	»
	6,2	»
<i>Pseudis paradoxa</i>	2,4	»
Microhylidae		
<i>Dermatonotus mülleri</i>	3,1	Beçak et al., 1970
<i>Gastrophryne carolinensis</i>	5,6	Olmo, 1973
	7,5	Goin et al., 1968
	12,6	Bachmann, Blommer-Schlösser, 1975
<i>Uperodon systoma</i>	4,0	Olmo, Morescalchi, 1968
<i>Anodonthyla boulengeri</i>	9,5	Bachmann, Blommer-Schlösser, 1975
<i>Paracophyla tuberculata</i>	12,6	Те же
<i>Platyhyla grandis</i>	10,9	»
<i>Platypelis tubifera</i>	11,5	»
<i>Plethodontohyla notosticta</i>	10,1	»
Hyperoliidae		
<i>Hyperolius argentovittis</i>	8,8	Olmo, 1973
<i>H. concolor</i>	10,2	Olmo, Morescalchi, 1978
<i>Heterixalis betsileo</i>	8,5	Bachmann, Blommer-Schlösser, 1975
<i>H. madagascariensis</i>	10,0	Те же
<i>H. tricolor</i>	9,3	»
<i>H. variabilis</i>	11,1	»
Ranidae		
<i>Rana</i> sp.	15,0	Mirsky, Ris, 1951
<i>R. ridibunda</i>	16,2	Mazin, 1980
<i>R. areolata</i>	9,7	Sexsmith, 1968
<i>R. arvalis</i>	10,8	»
	10,3	Mazin, 1980
	9,3	Ullerich, 1967
<i>R. capito</i>	7,4	Goin et al., 1968
<i>R. cascadae</i>	11,9	Sexsmith, 1968
<i>R. catesbeianana</i>	14,0	Ohno, 1967
	8,5	Sexsmith, 1968
	10,0	»
	13,0	Goin et al., 1968
	18,0	Bachmann, Blommer-Schlösser, 1975

Таблица 9 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
R. clamitans	10,8	Sexsmith, 1968
	11,6	Bachmann, Nishioka, 1978
R. dalmatina	9,0	Te же
	8,9	Mazin, 1980
R. esculenta	9,8	»
	13,9	Schmid, 1980
	11,2	Ullerich, 1967
	13,5	Bachmann, Nishioka, 1978
	11,2	Olmo, 1973
R. grylio	6,6	Goin et al., 1968
	7,8	Te же
R. beckscheri	10,1	»
	6,2	»
R. palustris	9,6	Sexsmith, 1968
R. pipiens	10,4	Sze, 1953
	15,8	England, Mayer, 1957
	15,0	Dawid, 1965
	10,1	Sexsmith, 1968
	10,3	Goin et al., 1968
	14,0	Gall, 1968
	15,0	Bachmann, 1970a
	17,9	Bachmann, 1971
	11,6	Olmo, Morescalchi, 1978
R. pretiosa	13,6	Sexsmith, 1968
R. septentrionalis	11,4	»
R. nigrimaculata	12,1	Mazin, 1980
R. sphenoccephala	8,3	Goin et al., 1968
	15,0	Bachmann, Blommer-Schlösser, 1975
R. sylvatica	8,8	Sexsmith, 1968
	13,0	Bachmann, Nishioka, 1978
R. temporaria	8,2	Walker, Yates, 1952
	8,9	Sandritter et al., 1960
	9,4	Bachmann, Nishioka, 1978
	9,2	Te же
	9,8	Mazin, 1980
	7,3	Ullerich, 1967
	10,5	Bachmann, Nishioka, 1978
R. graeca	11,3	Olmo, 1973
R. lessonae	12,6	Mazin, 1980
R. macrocnemis	11,5	Te же
R. chensinensis	8,0	»
R. dybowskii	8,2	Bachmann, Nishioka, 1978
R. limnocharis	8,3	Te же
R. ornativentris	9,3	»
R. japonica	10,2	»
R. tsushimensis	10,7	»
R. chensinensis	11,6	»
R. brevipoda	11,9	»

Таблица 9 (окончание)

Вид	пг/2С	Автор, год
<i>R. nigromaculata</i>	12,0	Bachmann, Nishioka, 1978
<i>R. rugosa</i>	16,3	»
<i>R. erythrea</i>	10,4	Schmid, 1980
<i>Pyxicephalus adspersus</i>	4,0	»
<i>Aglyptodactylus madagascariensis</i>	6,1	Bachmann, Blommer-Schlösser, 1975
<i>Gephyromantis</i> sp. 1	10,7	Те же
<i>Gephyromantis</i> sp. 2	12,9	»
<i>Gephyromantis</i> sp. 3	11,4	»
<i>Gephyromantis</i> sp. 4	13,3	»
<i>Gephyromantis</i> sp. 5	12,9	»
<i>G. liber</i>	9,6	»
<i>G. methueni</i>	11,3	»
<i>G. pulcher</i>	11,4	»
<i>Mantella aurantiaca</i>	9,6	»
<i>M. betsileo</i>	10,6	»
<i>M. cowani</i>	11,0	»
<i>Mantidactylus aerumnalis</i>	9,6	»
<i>M. albofrenatus</i>	8,5	»
<i>M. asper</i>	8,4	»
<i>M. betsileanus</i>	8,3	»
<i>M. biporus</i>	9,3	»
<i>M. brauni</i>	8,9	»
<i>M. curtus</i>	9,4	»
<i>M. femoralis</i>	9,3	»
<i>M. lugubris</i>	10,5	»
<i>Ptychadena mascariensis</i>	6,7	»
<i>Pyxicephalus labrosa</i>	6,5	»

с очень большой вариабельностью 2С — от 36 до 139 пг (табл. 9). Среднее значение размеров генома 74 изученных видов составляет 70 пг. Распределение значений геномного размера по обе стороны от среднего очень широкое, в пределах 80 пг (рис. 13, б).

Накопилось множество работ, в которых авторы пытались найти объяснение существованию феноменально большого размера генома *Urodela* (см., например, [Оно, 1973]).

Мы уже останавливались на исследованиях, посвященных сравнению молекулярных характеристик генома безлегочных саламандр родов *Plethodon* и *Aneides* [Mizuno, Macgregor, 1974; Mizuno et al., 1976; Macgregor, Jones, 1977]. Заслуживает также внимания сравнительный анализ геномного размера *Urodela* с иными характеристиками этих земноводных, а именно с морфометрическими параметрами клеток (эритроцитов). Олмо и Морескальки [Olmo, Morescalchi,

1975] исследовали 39 видов из восьми семейств, охватывающих весь размах колебаний $2C$ в этом отряде. Для сравнения были взяты следующие параметры: ядерный объем (N_v в мкм^3), клеточный объем (C_v в мкм^3), клеточная поверхность (C_s в мкм^2) и отношение клеточной поверхности к клеточному объему (C_s/C_v), а также число хромосом в кариотипе. Было показано, что между числом хромосом и содержанием ДНК корреляция отсутствует. В то же время обнаружена прямая линейная корреляция между содержанием ДНК и N_v , C_v , C_s .

Зависимость между $2C$ и C_s/C_v является функцией экспоненциального типа: уменьшение C_s/C_v идет круто с увеличением $2C$ от 30 до 70 пг и очень полого при дальнейшем увеличении. Из более ранних работ, цитируемых в анализируемой, отношение C_s/C_v является мерой клеточного окислительного метаболизма, или, другими словами, относительная поверхность клетки является фактором, определяющим уровень клеточного окислительного метаболизма. Величина C_s/C_v , вычисленная на единицу размера генома (1 пг на ядро), у бесхвостых амфибий равна 0,05, у хвостатых амфибий с $2C$ менее 70 пг — 0,04, а у хвостатых же амфибий с $2C$ более 70 пг — только 0,006. Отсюда Олмо и Морескальки делают вывод, что педогенетические амфибии (а именно они обладают большим геномом) имеют низкий

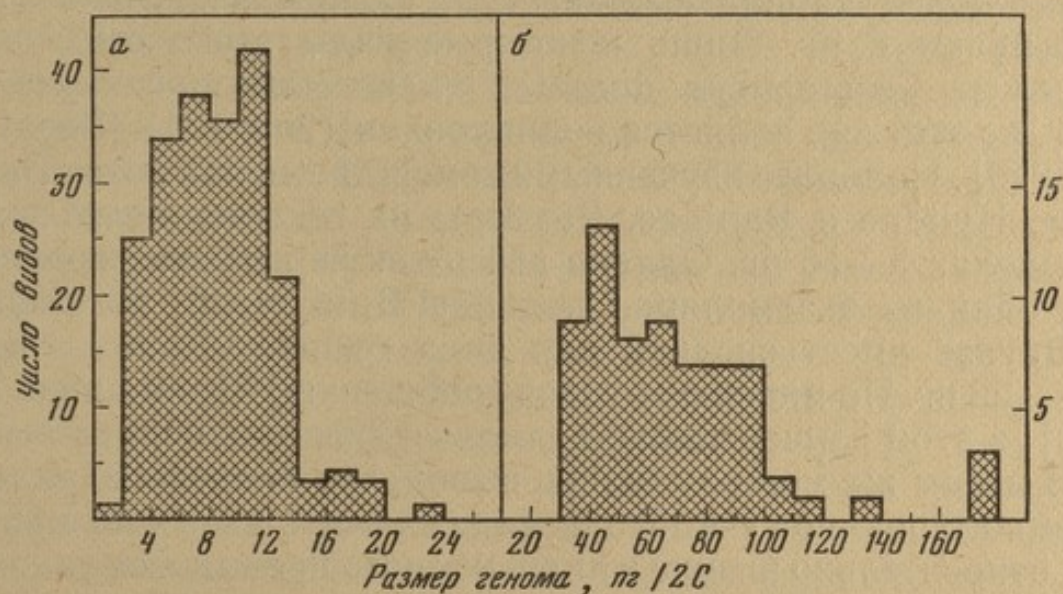


Рис. 13. Гистограмма размеров генома у бесхвостых (а) и хвостатых (б) амфибий

Среднее значение для 212 видов бесхвостых равно 8,4 пг, для 74 видов хвостатых — 70,0 пг. Следует учесть, что на рисунках (а) и (б) масштаб разный

уровень метаболизма, что, по-видимому, является адаптацией к условиям среды, неблагоприятным для конкурентов, например для рыб. Возможно, что причиной рассмотренного рода ядерной гипертрофии, характерной для педогенетических *Urodela*, является адаптивный процесс на клеточном уровне у организмов, фенотипически очень специализированных и постоянно сохраняющих личиночную среду обитания [Olmo, Morescalchi, 1975].

3. Бесхвостые Апуга

Третья и самая многочисленная ветвь земноводных Апуга характеризуется значительно меньшим клеточным содержанием ДНК: максимальное значение около 25 пг, минимальное — 1,6 пг (см. табл. 9). Большинство же видов этого отряда (более 90%) имеют геном, величина которого колеблется от 2 до 14 пг (рис. 13, а). Среднее значение, вычисленное для 212 видов, равно 8,4 пг. Вариабельность внутри семейств значительно ниже, чем у *Urodela*, но все же выше, чем у других групп позвоночных. В так называемых примитивных семействах имеются виды, обладающие наибольшим для Апуга геномом (семейства *Discoglossidae* и *Ascaphidae*), но в то же время имеются и виды с наименьшим для отряда геномом (семейства *Pipidae* и *Pelobatidae*).

У «высших» Апуга, например у *Leptodactylidae*, размеры генома более стабилизированы и, за редким исключением, не превышают 8 пг. Лишь некоторые виды этого семейства, например *Ceratophrys dorsata*, имеют большой геном — 13 пг, но этот вид является полиплоидом ($2n=104$) [Beçak et al., 1979]. Наиболее изученными семействами являются *Bufo-nidae*, *Hylidae* и *Ranidae*. Размеры их геномов колеблются в пределах 3—16 пг. Однако здесь также найдено исключение: один из экземпляров подвида *Bufo viridis turanensis* из Фрунзе имеет средний для вида геном — 13 пг, а другой — 23 пг. По мнению авторов сообщения [Bachmann et al., 1978], в этом случае также возможен феномен полиплоидии.

В целом же можно сделать вывод, что пределы вариации геномного размера у Апуга, если исключить явных полиплоидов, относительно низкие и лишь немного превышают таковые у высших позвоночных, например у млекопитающих.

Пресмыкающиеся, а также птицы и млекопитающие составляют группу наземных позвоночных — амниот. Современная фауна пресмыкающихся насчитывает около 6300 видов. Подкласс Archosauria включает 21 вид, относящийся к отряду Crocodilia, подкласс Lepidosauria включает 6100 видов, относящихся к отряду чешуйчатых Squamata, и лишь один вид, относящийся к отряду клювоголовых Rhynchocerphalia, и, наконец, наиболее древний подкласс Anapsida включает 200 видов черепах — отряд Chelonina.

§ 1. Структура генома

Исследованные виды рептилий являются представителями всех трех современных подклассов рептилий и относятся как к наиболее древней (черепахи), так и к более молодым (крокодилы, ящерицы, змеи) ветвям пресмыкающихся. Два вида, морская черепаха и полоз, были изучены в нашей лаборатории. На рис. 14,1 показана кривая кинетики реассоциации коротких (в среднем 0,3 т.п.н.) фрагментов ДНК амурского полоза *Elaphe schrenckii*. Профиль кривой позволяет выявить очень быстро реассоциирующую ($C_0t < 10^{-3}$), промежуточную ($C_0t 0,2—20$) и медленно реассоциирующую ($C_0t > 20$) фракции. Обращает на себя внимание отсутствие какой-либо фракции при значениях $C_0t 10^{-3}—10^{-1}$. Содержание очень быстро реассоциирующей фракции в геноме составляет 11%, промежуточной — 24% (повторяемость последовательностей 1000), медленной фракции — 65% (табл. 10). Аналогичный профиль имеет кривая кинетики реассоциации ДНК морской черепахи *Chelonina mydas* [Гинатулин Гинатулина, 1979а; Ginatulin et al., 1980]. Очень быстрая фракция составляет 14%, промежуточная — 24% (повторяемость 300), медленная — 62%. Значение $C_0t_{1/2}$ медленной фракции составило 1800 у полоза и 2500 у черепахи, а $C_0t_{1/2}$ *E. coli*, кинетика которой была получена в параллельном эксперименте, — 35. Следовательно, гапло-

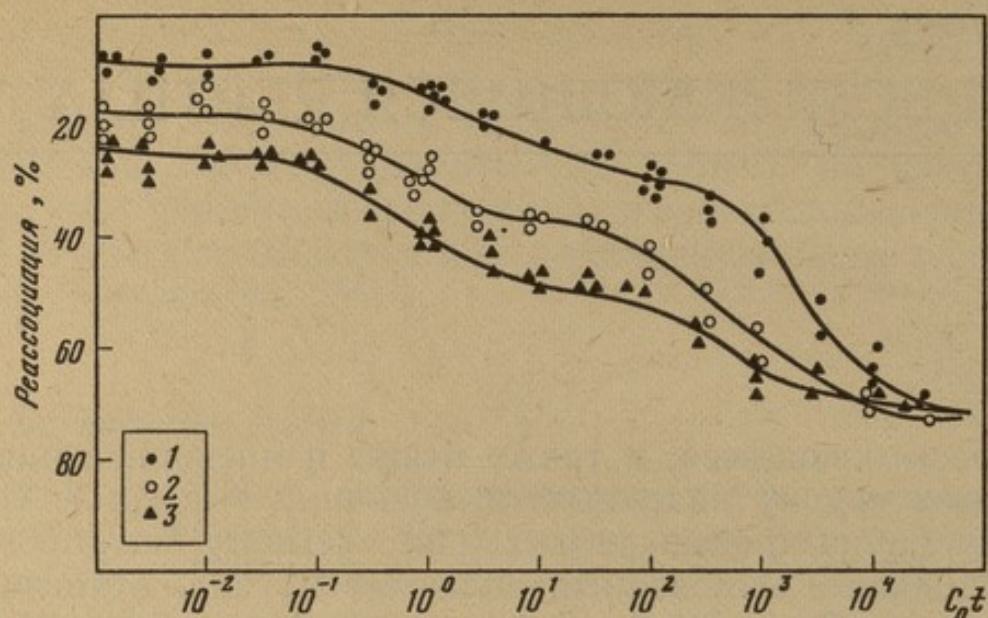


Рис. 14. Кинетика реассоциации ДНК полоза *Elaphe schrenckii* при использовании фрагментов длиной 0,3 (1), 6,0 (2) и 14 т. п. н. (3)

идный размер генома полоза в 510, а морской черепахи в 710 раз больше генома *E. coli*. Тогда в абсолютных значениях величина геномов этих видов будет равняться 2,4 и 3,3 пг соответственно. Найденные значения согласуются с выводами Олмо [Olmo, 1981] о том, что геном черепах в целом больше генома чешуйчатых. Сходный профиль кривой кинетики реассоциации коротких фрагментов получен при исследовании генома представителя третьей ветви рептилий — крокодила *Caiman crocodilus* [Erpplen et al., 1979].

Кроме этих трех видов, более или менее детально изучена кинетика реассоциации коротких фрагментов еще у девяти видов. В табл. 10 приведены данные по структуре генома всех 12 видов. В некоторых случаях данные других авторов подверглись пересчету, чтобы как можно точнее охарактеризовать геном изученных рептилий. Например, в работе Олмо и соавторов [Olmo et al., 1981] все последовательности, реассоциирующие в пределах $C_0t \ 10^{-3}—10^2$, названы промежуточными. Однако графический материал, представленный авторами, наглядно демонстрирует наличие по крайней мере двух фракций: большой, четко различимой фракции, реассоциирующей в пределах $C_0t \ 10^{-1}—10^2$, и минорной — $C_0t \ 10^{-3}—10^{-1}$. Автор взял на себя смелость пересчитать процентное содержание этих фракций и отметил виды с пересмотренными данными в табл. 10 звездочкой.

Таблица 10. Структура генома рептилий

Вид	Частота повторности фракций	Доля фракции в геноме	Автор, год
Chelonia			
Emydidae			
Terrapene carolina (черепаха коробчатая)	ОП 750 1	0,27 0,19 0,54	Erpplen et al., 1979
Testudinidae			
Testudo horsfieldi (черепаха степная)	ОП 1 900 35 1	0,06 0,14 0,17 0,63	Ломов, 1981
Testudo hermanni (черепаха Германа)	ОП 10 000 300 1	0,18 0,09 0,19 0,53	Olmo et al., 1981
Cheloniidae			
Chelonia mydas (черепаха морская или зеленая)	ОП 300 1	0,14 0,24 0,62	Наши данные
Crocodylia			
Alligatoridae			
Caiman crocodilus (кайман)	ОП 1 250 1	0,13 0,21 0,66	Erpplen et al., 1979
Squamata			
Cordylidae			
Cordylus warreni *	ОП 10^4-10^6 4 000 1	0,13 0,03 0,39 0,45	Olmo et al., 1981
Cordylus giganteus *	ОП 10^4-10^6 3 400 1	0,15 0,08 0,32 0,45	Те же
Lacertidae			
Lacerta sicula (ящерица) *	ОП 10^4-10^6 70 1	0,05 0,17 0,10 0,68	»
Varanidae			
Varanus exanthematicus (варан) *	ОП 10^4-10^6 15 000 1	0,06 0,03 0,30 0,60	»

Таблица 10 (окончание)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля фракции в геноме	Автор, год
Boidae			
Python reticulatus (питон)	ОП 130 1	0,12 0,17 0,71	Epplen et al., 1979
Colubridae			
Elaphe schrencki (полз амурский)	ОП 1 000 1	0,11 0,24 0,65	Наши данные
Natrix natrix (уж) *	ОП 10 ⁴ —10 ⁶ 2 800 1	0,05 0,07 0,41 0,46	Olmo et al., 1981

П р и м е ч а н и е. ОП — обращенные повторы; данные для видов, помеченных звездочкой, пересчитаны исходя из графического материала авторов.

Общая доля повторов в геноме черепах составляет 37—47%, змей — 29—54%, ящериц — 32—53%, крокодила — 34%, а среднее значение для 12 видов — 42%. Очень быстрая фракция варьирует у большинства рептилий от 5 до 18%, достигая у коробчатой черепахи *Testudo carolina* 27%. Умеренно быстрая фракция с повторяемостью более 10 тыс. хорошо выявляется лишь у ящерицы *Lacerta sicula*, а у других видов либо является минорной, либо вообще не выявляется. Зато промежуточная фракция, последовательности которой повторяются от сотен до нескольких тысяч раз, занимает заметную часть генома — 10—40%, в большинстве случаев 20—30%. Редко повторяющаяся фракция (35 копий) выявлена лишь у степной черепахи *Testudo horsfieldi* (см. табл. 10).

Приведенные данные свидетельствуют об относительном однообразии структуры генома видов, принадлежащих к разным подклассам пресмыкающихся, в отличие их от структуры генома большинства рыб и амфибий. Общее количество повторов в геноме рептилий менее 50%, не всегда четко выявляется фракция с повторяемостью 10⁴—10⁵ характерная для геномов рыб, особенно лососевых и хрящевых, амфибий и, как будет далее показано, млекопитающих.

§ 2. Организация генома

Для многих из перечисленных выше видов был исследован характер интерсперсии последовательностей в геноме путем сопоставления реассоционных кривых, полученных с использованием коротких и длинных фрагментов ДНК.

Сравнительный анализ кинетических кривых, полученных при разных размерах фрагментов ДНК морской черепахи, показал, что увеличение средней длины фрагментов от 0,3 до 0,4 т.п.н. существенно не изменяет характер кривых ни качественно, ни количественно. Расчеты показали, что лишь 8% генома занято короткими уникальными последовательностями (13% всей уникальной фракции). Протяженность их не превышает 1,4 т.п.н. Дальнейшее увеличение длины фрагментов до 5 т.п.н. вообще не вызывает изменения доли какой-либо фракции в пределах 2%-ной ошибки измерений. Отсюда следует, что подавляющая часть генома представлена повторяющимися и уникальными последовательностями очень большой протяженности, порядка нескольких десятков тысяч пар нуклеотидов. Полученные результаты можно интерпретировать однозначно: около 90% генома *Chelonia mydas* организовано способом сверхдлинной интерсперсии («альбатросный тип»).

Несколько другая организация генома обнаружена в геноме полоза *Elaphe schlegelii*. Анализ кинетики реассоциации фрагментов ДНК длиной 0,3 и 6,0 т.п.н. (см. рис. 14) показывает, что в геноме полоза короткий период чередования повторов и уникальных последовательностей более выражен, чем в геноме морской черепахи. Так, увеличение размера фрагментов до 6 т.п.н. приводит к уменьшению уникальной фракции на 18% (а у черепахи, как мы видели, только на 8% при фрагментах 5 т.п.н.). Следовательно, треть уникальных последовательностей чередуется с повторами на участке не более 6 т.п.н. Промежуточная фракция при этом уменьшается лишь на 3%, в то время как очень быстро реассоциирующая — почти на 15%, т. е. с уникальными последовательностями перемежаются в основном очень быстро реассоциирующие повторы.

При увеличении фрагментов еще в 2,5 раза уникальная фракция уменьшается еще на 14%, т. е. в геноме полоза имеется и умеренно длинный период чередования (6—14 т. п. н. по крайней мере), охватывающий 22% уникальных последовательностей. Организация генома полоза, таким образом, отличается от таковой морской черепахи. Здесь повторяющиеся последовательности более рассредоточены среди

уникальных. Почти половина уникальных последовательностей примыкает к повторам на участке 14 т. п. н., большая часть из них — на участке 6 т. п. н. Отсюда следует, что организация генома змеи несколько ближе к «ксенопусному типу», чем организация генома морской черепахи.

Кинетика реассоциации длинных фрагментов ДНК каймана (2,6 т.п.н.) резко отличается от кинетики коротких фрагментов [Erplen et al., 1979]. При увеличении фрагментов от 0,3 до 2,6 т. п. н. фракция уникальных последовательностей уменьшается на $\frac{2}{3}$. Интересно отметить, что доля промежуточной фракции увеличивается на 33%, а очень быстрой — лишь на 10%. Следовательно, в геноме крокодила короткий период еще более выражен, чем в геноме полоза, при этом обращенные повторы организованы кластерами, почти не рассредоточиваясь среди других типов последовательностей, а с уникальными чередуются промежуточные повторы.

В табл. 11, построенной по тому же принципу, что и табл. 5 и 8, обобщены данные по организации последовательностей у 11 видов рептилий. Можно видеть, что у черепах зеленой и степной, несмотря на солидное относительное содержание уникальных последовательностей, лишь небольшая их часть имеет длину менее 2 т.п.н. У двух других черепах коротких уникальных последовательностей несколько больше — 35—45% всей фракции. Приблизительно такое же количество их в геномах змей и ящериц. Лишь у одного из видов ящериц — *Lacerta sicula* и у крокодила большая часть (65—70%) уникальной фракции представлена короткими последовательностями. По этому признаку геном последних двух видов, бесспорно, организован по «ксенопусному типу».

Таким образом, геномы рептилий, несмотря на сходство в структуре, сильно различаются по организации последовательностей у разных видов. Если в геноме морской и степной черепах преобладают длинные и сверхдлинные уникальные последовательности, то у каймана и у одной из ящериц преобладают короткие. У остальных пресмыкающихся их количество промежуточное. Эти результаты не коррелируют ни с размером генома, ни с систематическим положением видов.

Для того чтобы определить протяженность повторяющихся последовательностей в геноме морской черепахи, фрагменты ДНК длиной 3 т. п. н. реассоциировали до C_0t 50 и обрабатывали S_1 -нуклеазой в мягких условиях ($DIG. = 0,66$). При хроматографии на ГАП связалось 37,4% ДНК; в параллельной пробе, содержащей те же компоненты смеси но

Таблица 11. Организация генома рептилий

Вид	Общее содержание уникальных последовательностей, % генома	Доля коротких уникальных последовательностей, % фракции	Автор, год
Chelonia			
Emydidae			
Terrapene carolina (черепаха каролинская коробчатая)	54	45	Epplen et al., 1979
Testudinidae			
Testudo horsfieldi (черепаха степная)	63	25	Ломов, 1981
T. hermanni (черепаха Германа)	53	35	Olmo et al., 1981
Cheloniidae			
Chelonia mydas (черепаха морская или зеленая)	62	13	Наши данные
Crocodylia			
Alligatoridae			
Caiman crocodilus (кайман)	66	70	Epplen et al., 1979
Squamata			
Cordylidae			
Cordylus giganteus	45	42	Olmo et al., 1981
Lacertidae			
Lacerta sicula (ящерица)	68	65	Те же
Varanidae			
Varanus exanthematicus) варан	60	30	»
Boidae			
Pithon reticulatus (питон)	71	46	Epplen et al., 1979
Colubridae			
Elaphe schrencki (полз амурский)	65	30	Наши данные
Natrix natrix (уж)	46	40	Olmo et al., 1981

без добавления нуклеазы, связалось 48% ДНК. Отсюда следует, что во фрагментах длиной 3 т.п.н. 78% ($37,4 \cdot 100/48$) занимают спаренные районы. Это согласуется с выводами об относительно малой степени вовлечения уникальных последовательностей в чередование с повторами из опытов по реассоциации фрагментов ДНК разной длины. Устойчивые к действию нуклеазы дуплексы элюировали из колонки с ГАП и наносили на колонку с биогелем А-15m. Профиль гель-фильтрации дуплексов [Ginatulin et al., 1980] имеет двухфазный характер: 31% дуплексов (11,6% генома) элюируются в исключительном объеме, т. е. имеют размер, превышающий 1,2 т. п. н., а остальные 69% (28,5% генома) распределяются по размерам и элюируются широким пиком с максимумом 0,4 т.п.н. и средним значением 0,33 т.п.н. Относительно большое количество коротких повторов, реассоциирующих при C_0t 50, и малое количество перемежающихся с ними на коротком участке, менее 1,4 т.п.н., уникальных последовательностей (8,2%) позволили нам предположить, что в геноме черепахи короткие повторы разделены еще более короткими неповторяющимися вставками. Средний размер этих вставок, согласно расчетам, равен 0,1 т. п. н. ($0,33 \cdot 8,2/25,8$) [Гинатулин, Гинатулина, 1979а; Ginatulin et al., 1980]. Полученные данные допускают и другое, более вероятное решение. Возможно, что длинные повторы черепахи, как и длинные повторы симы, составлены из чередующихся друг с другом, несколько отличающихся по последовательности оснований коротких субповторов, образующих при реассоциации вследствие неполной комплементарности нуклеазочувствительные участки (так называемые пермутированные повторы) (см. рис. 4, Д).

Для полоза устойчивые к действию нуклеазы дуплексы были получены из очень длинных фрагментов ДНК, равных 14 т.п.н., после реассоциации до C_0t 50 при двух разных значениях DIG. — 0,70 и 0,95. Количество дуплексов, связывающихся с ГАП, в обоих случаях было примерно одинаковым — 33,1% при DIG. = 0,7 и 35,6% при DIG. = 0,95. Доля спаренных участков в среднем составила половину фрагмента (50,4% при DIG. = 0,7 и 49,8% при DIG. = 0,95). Профили гель-фильтрации дуплексов, полученных при разных DIG., резко различались. При обработке реассоциатов ферментом в мягких условиях две трети образовавшихся дуплексов были короче 1,2 т.п.н. (64,9%, что составляет 16,4% генома), с максимумом, совпадающим с пиком элюции маркеров, размером 0,3 т.п.н. [Гинатулин, 1981]. В жестких условиях образуются дуплексы очень короткого размера,

выявляющиеся в виде острого пика с максимумом около 0,15 т. п. н. в количестве 40,5% всех дуплексов (10,1% генома), другая часть коротких дуплексов (25,4 или 6,3% генома) распределяется между 0,25 и 1,2 т.п.н. Длинные дуплексы (более 1,2 т.п.н.) составляют около 35% материала, или 9% генома при любом DIG. Это свидетельствует о том, что протяженные повторяющиеся последовательности ДНК полоза в отличие от таковых черепахи спариваются при реассоциации достаточно точно (т. е. они меньше дивергировали). Средние же по размеру повторы (0,1—1 т. п. н.) после реассоциации содержат неспаренные участки, гидролизующиеся в жестких условиях переваривания с образованием очень коротких дуплексов. Это согласуется с данными других авторов, свидетельствующими о том, что короткие повторы являются более дивергировавшими, чем длинные [Davidson et al., 1975; Goldberg et al., 1975; Galau et al., 1976; Epplen et al., 1979]. Однако тот факт, что продукты, образующиеся после гидролиза средних повторов, очень гомогенны по размеру, по-видимому, свидетельствует не в пользу мутирования (дивергенции) повторов в случайных местах, а скорее всего, в пользу организации их в виде пермутированных субповторов.

Обработку реассоциатов S_1 -нуклеазой Эпплен и соавторы [Epplen et al., 1979] проводили при изучении каймана, пресноводной черепахи и питона. Большая часть S_1 -устойчивых дуплексов каймана, полученных после реассоциации до C_0t 30, элюируют в исключенном объеме, т. е. имеют размеры, превышающие 1,5 т.п.н. Дополнительный анализ показал, что очень быстро реассоциирующая фракция почти полностью представлена протяженными повторами, а промежуточная фракция очень гетерогенна по размеру: 50% составляют повторы длиной 0,15—0,35 т.п.н., 20% — повторы длиной 0,35—1,5 т.п.н. и остальные 30% — очень протяженные повторы, длиной более 1,5 т.п.н. Плавление устойчивых дуплексов показало, что длинные дуплексы спариваются более точно, чем короткие, что совпадает с нашими данными по ДНК полоза, но отличается от данных, полученных для дуплексов ДНК черепахи. Исследование длины повторов пресноводной черепахи и питона показало, что более половины повторов являются протяженными (более 1,5 т.п.н.), остальные дуплексы имеют более широкое распределение, но, как и у других рептилий (за исключением морской черепахи), с более или менее выраженным пиком очень коротких дуплексов, 0,1—0,2 т.п.н.

Сравнивая организацию генома рептилий с таковой рыб и амфибий, нужно отметить, что рептилии представляют собой более гетерогенную группу. Здесь выявлены виды, в геноме которых преобладает как короткий (ксенопусный), так и длинный период интерсперсии последовательностей и сверх того большая группа с промежуточным планом строения генома.

§ 3. Размер генома

Таблица 12 содержит данные для 108 видов пресмыкающихся из всех отрядов. Эти же данные на рис. 15 представлены в виде гистограммы: по оси абсцисс отложены значения диплоидного размера генома, а по оси ординат — число видов с тем или иным его значением. Минимальный геном (2,3—2,5 пг) обнаружен у некоторых ящериц-двуходок (*Amphisbaenidae*) и ящериц-тейид (*Teiidae*), а максимальный (10—11 пг) — у черепахи *Testudo graeca* и у единственного

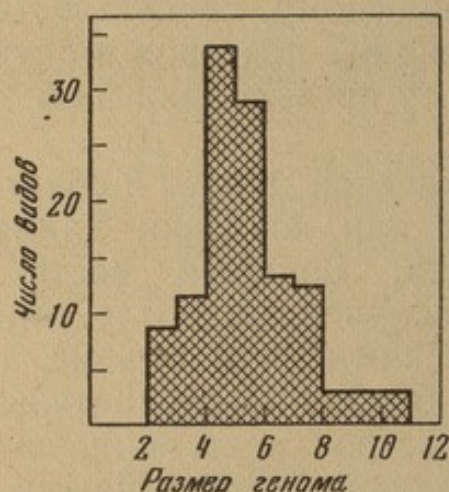


Рис. 15. Гистограмма размеров генома у рептилий (пг/2С)

Около 60% видов имеют геном величиной 4—6 пг, среднее значение для 108 видов 5,3 пг

представителя клювоголовых — гаттерии *Sphenodon punctatus*. Среднее значение 2С для 108 видов 5,3 пг. Распределение видов по размерам генома у рептилий значительно уже, чем у амфибий, даже если брать во внимание лишь бесхвостых амфибий. Около 90% видов имеют геном, величина которого лежит в пределах 5 пг (от 3 до 8 пг), а 55% видов — в пределах 2 пг (от 4 до 6 пг). Межвидовые различия в размере генома не коррелируют с числом хромосом и не обусловлены полиплоидией [Olmo, 1981].

В среднем повышенную величину генома имеют черепахи (отряд *Chelonia*) с более широкими, чем у других групп, пределами вариабельности (от 4,6 до 10,9). Змеи и ящерицы имеют примерно одинаковые пределы вариации (от 2,5 до 7,8).

Таблица 12. Размер генома рептилий

Вид	пг/С	Автор, год
Chelonia		
Kinosternidae		
Kinosternon subrubrum	5,6	Olmo, 1981
Sternotherus odoratus	5,3	Те же
Chelidridae		
Chelidra serpentina	5,6	»
	5,0	Mirsky, Ris, 1951
Platysternidae		
Platysternon megacephalum	5,4	Olmo, 1981
Emydidae		
Chrysemys picta dorsalis	6,0	Те же
Clemmys sp.	4,9	Mirski, Ris, 1951
Cuora amboinensis	4,3	Olmo, 1981
Goemyda grandis	6,2	Те же
Pseudemys concinna	8,3	»
Terrapene carolina	8,4	»
Testudinidae		
Gopherus agassizii	5,8	Atkin et al., 1965
Kinixys belliana	7,1	Olmo, 1981
Testudo carbonaria	7,8	Те же
T. horsfieldi	9,0	Ломов, 1981
T. graeca	10,9	Olmo, 1981
T. hermanni	7,1	Те же
Cheloniidae		
Chelonia mydas	6,3	Mirsky, Ris, 1951
	6,6	Гинатулин, 1981
Trionychidae		
Trionyx cartilagineus	9,1	Olmo, 1981
T. (Amyda) ferox	5,4	Atkin et al., 1965
Pelomedusidae		
Pelomedusa subrufa	4,6	Olmo, 1981
Crocodylia		
Alligatoridae		
Alligator mississippiensis	5,0	Mirsky, Ris, 1951
Caiman crocodylus	5,6	Atkin et al., 1965
	5,3	Olmo, 1981
	6,2	Epplen et al., 1979
Caiman latirostris	7,8	Olmo, 1981
Rhynchocephalia		
Sphenodontidae		
Sphenodon punctatus	10,0	Те же
	10,6	Vialli, Casonato, 1971
Squamata		
Iguanidae		
Anisolepis grilli	3,7	Soma et al., 1975

Таблица 12 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
<i>Anolis carolinensis</i>	6,1	Olmo, 1981
	4,6	Atkin et al., 1965
<i>Basiliscus basiliscus</i>	4,1	Olmo, 1981
<i>Enyalius iheringli</i>	4,4	Soma et al., 1975
<i>Iguana iguana</i>	5,8	Olmo, 1981
<i>Sceloporus occidentalis</i>	4,7	Те же
Agamidae		
<i>Agama agama</i>	4,2	»
<i>Calotes versicolor</i>	5,0	Olmo, 1981
<i>Uromastix acanthinurus</i>	4,4	Те же
Chamaeleonidae		
<i>Chamaleo jacksonii</i>	4,0	»
Gekkonidae		
<i>Hemidactylus brookii</i>	6,3	»
<i>H. frenatus</i>	6,0	»
<i>H. mabouia</i>	3,8	Soma et al., 1975
<i>Tarentola mauritanica</i>	5,1	Olmo, 1981
<i>Thecadactylus rapicauda</i>	4,0—4,4	Soma et al., 1975
Pygopodidae		
<i>Lialis burtonis</i>	5,0	Olmo, 1981
Teiidae		
<i>Ameiva ameiva</i>	3,0	Soma et al., 1975
<i>Chemidophorus lemniscatus</i>	2,5	Те же
<i>Kentropyx psulensis</i>	2,4	»
<i>Pantodactylus quadrilineatus</i>	2,9	»
<i>Tupinambis teguixin</i>	3,8	»
	5,8	Olmo, 1981
Lacertidae		
<i>Lacerta dugersii</i>	4,9	Те же
<i>L. galloti</i>	4,7	»
<i>L. muralis</i>	4,7	»
<i>L. pityusensis</i>	5,4	»
<i>L. sicula camperstris</i>	4,4	»
<i>L. sicula sicula</i>	4,4	»
<i>L. viridis</i>	5,1	»
	3,2	Grosset, Odartchenko, 1975
<i>Psammodromus algirus</i>	5,9	Olmo, 1981
Cordylidae		
<i>Cordylus cataphractus</i>	7,9	Те же
<i>C. jonensii</i>	7,9	»
<i>C. giganteus</i>	7,8	»
<i>C. polyzonus</i>	7,7	»
<i>C. rhodesianus</i>	7,2	»
<i>C. vittifer</i>	6,9	»
<i>C. warreni depressus</i>	7,2	»
<i>Gerrhosaurus major</i>	6,8	»
<i>G. validus</i>	6,2	»
<i>Platysaurus guttatus</i>	6,4	»

Таблица 12 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
<i>P. intermedius</i>	6,2	Olmo, 1981
<i>Pseudocordylus microlepidotus</i>	6,3	Те же
<i>Tetradactylus sepsseps</i>	5,7	»
Scincidae		
<i>Chalcides mionecton</i>	4,2	»
<i>Eumeces inexpectatus</i>	5,3	»
<i>Mabuya macularia</i>	4,2	»
<i>Sphenops sphenopsiformis</i>	4,5	»
Anguidae		
<i>Anguis fragilis</i>	7,6	»
<i>Diploglossus fasciatus</i>	2,9	Soma et al., 1975
<i>Gerrhonotus multicarrinatus</i>	4,4	Atkin et al., 1965
<i>Ophiodes striatus</i>	2,8	Soma et al., 1975
<i>Ophisaurus apodus</i>	5,0	Olmo, 1981
<i>O. koellikeri</i>	3,1	Те же
Varanidae		
<i>Varanus bengalensis</i>	4,7	»
<i>V. exanthematicus</i>	4,9	»
Amphisbaenidae		
<i>Aphisbaena mertensii</i>	2,3	Soma et al., 1975
Bipedidae		
<i>Bipes biporus</i>	3,7	Macgregor, Klosterman, 1979
<i>B. canaliculatus</i>	4,0	Те же
Trogonophidae		
<i>Trogonophis wiegmanni</i>	3,3	Olmo, 1981
Boidae		
<i>Boa constrictor</i>	6,3	Те же
	4,1	Atkin et al., 1965
<i>Epicrates cenchris</i>	6,2	Olmo, 1981
<i>Python reticulatus</i>	3,5	Те же
Colubridae		
<i>Coluber constrictor</i>	2,9	Mirsky, Ris, 1951
<i>C. viridiflavus</i>	4,4	Olmo, 1981
<i>Coronella girondica</i>	5,1	Те же
<i>Drymarchon corais couperi</i>	4,3	Atkin et al., 1965
<i>Elaphe obsoleta</i>	4,3	Mirsky, Ris, 1951
<i>E. schrencki</i>	4,8	Наши данные
<i>Leptophis mexicanus</i>	5,3	Olmo, 1981
<i>Natrix natrix</i>	5,1	Те же
	4,1	Графодатский и др., 1979
<i>Natrix sp.</i>	5,0	Mirsky, Ris, 1951
<i>Xenodon merremii</i>	4,9	Atkin et al., 1965
Elapidae		
<i>Micrurus nigrocinctus</i>	3,1	Olmo, 1981

Таблица 12 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Hydrophiidae		
<i>Enhydrina schistosa</i>	5,5	Olmo, 1981
<i>Laticauda</i> sp.	7,4	»
<i>Prasicta viperina</i>	4,8	»
Viperidae		
<i>Vipera aspis</i>	5,8	»
<i>V. berus</i>	6,1	»
Crotalidae		
<i>Bothrops asper</i>	5,4	»
<i>B. godmani</i>	4,4	»
<i>B. jararaca</i>	4,5	Atkin et al., 1965
<i>B. lateralis</i>	3,8	Olmo, 1981
<i>B. schlegeli</i>	4,4	Те же
<i>Crotalus durissus ferrificus</i>	2,6	»
<i>Lachesus mutus</i>	4,3	»

Данные о величине генома у крокодилов весьма скудны, и пока невозможно очертить пределы ее вариации в этой группе. Наконец, как уже упоминалось, очень большой геном обнаружен у реликтового вида — гаттерии (10 пг).

Таким образом, по содержанию клеточной ДНК рептилии являются очень гомогенной группой. Ни один из отрядов не показывает таких резких отличий по этому показателю, как, например, отряд двоякодышащих, а у амфибий — отряд хвостатых.

Птицы (покрытые перьями теплокровные амниоты) настолько близки к пресмыкающимся, что их иногда объединяют с последними в один надкласс ящерообразных *Sauropsida*. Признаки, отличающие птиц от пресмыкающихся, носят преимущественно характер приспособлений к полету. Глубокая специализация к полету привела к ограничению адаптивной радиации птиц, среди них нет, например, видов с чисто подземным или подводным образом жизни. По количеству же видов (8600) это наиболее многочисленный, после рыб, класс позвоночных животных. Вместе с тем размер генома, молекулярная и надмолекулярная структуры его у птиц изучены гораздо хуже, чем у представителей других классов.

§ 1. Структура генома

Кинетика реассоциации коротких фрагментов ДНК получена для 12 видов из восьми отрядов. Некоторые домашние виды, например курица и голубь, исследованы параллельно в нескольких лабораториях. Четыре вида изучены в нашей лаборатории. Это два вида альбатросов — королевский *Diomedea eromorpho* и сероголовый *D. chrisostoma* (отряд буревестникообразные *Procellariiformes*), кайра *Uria aalge* (отряд ржанкообразные *Charadriiformes*) и курица *Gallus domesticus* (правильнее *Gallus gallus domesticus*, отряд курообразные *Galliformes*).

Общее количество повторяющихся последовательностей в геноме королевского альбатроса *Diomedea eromorpho* очень мало — 15% (рис. 16, а; табл. 13). Из них 5,3% реассоциируют очень быстро при $C_0t \cdot 10^{-3}$, 96% реассоциируют с промежуточной скоростью (1800 копий). Уникальные последовательности в количестве 85% всей ДНК реассоциируют со значением $C_0t_{1/2} = 1800$. Значение $C_0t_{1/2}$ *E. coli* (0,3 т.п.н.), полученное в тех же условиях эксперимента, равно 3,5. Размер генома королевского альбатроса, рассчитанный исходя из этих значений, составляет 2,4 пг, или $2,1 \cdot 10^9$ п.н. на гаплоидный набор хромосом.

Сходные кривые кинетики реассоциации коротких фрагментов ДНК получены для сероголового альбатроса *Diome-*

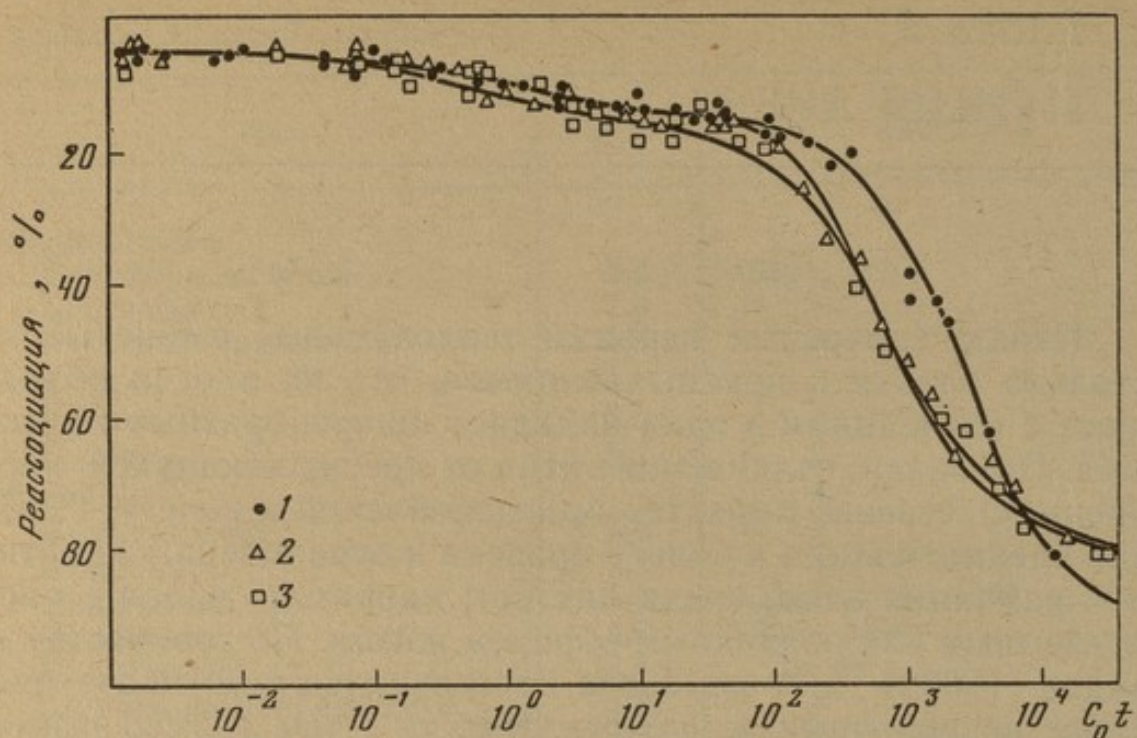


Рис. 16. Кинетика реассоциации ДНК королевского альбатроса *Diomedea erophorhga* при использовании фрагментов длиной 0,3 (1), 2,1 (2) и 6 т. п. н. (3)

dea chrisostoma, кайры *Uria aalge* [Гинатулин, 1981] и курицы *Gallus domesticus* [Гинатулин и др., 1979]. Очень быстрая фракция составляет по 7% у сероголового альбатроса и курицы и 16% у кайры, промежуточная фракция — 15—20% (повторяемость 500—2000), медленная фракция — 64% у кайры и по 74—78% у курицы и сероголового альбатроса (табл. 13).

Детальное исследование изолированной фракции повторов королевского альбатроса показало, что, кроме промежуточной фракции, имеется умеренно быстрая с частотой повторяемости 50—100 тыс. на геном. Доля этой фракции не превышает 2% и поэтому неудивительно, что на кривой кинетики реассоциации тотальной ДНК эту фракцию выявить практически невозможно.

В геномах остальных птиц, изученных в других лабораториях, количество повторов колеблется в тех же пределах, что и у изученных нами видов. Так, промежуточные повторы у страуса *Struthio camelus* (отряд *Struthioniformes*) занимают 10% всей ДНК (авторы [Eden, Hendrick, 1978] не приводят величину доли очень быстрой фракции). Общее количество повторов у голубя *Columba livia domestica* (отряд *Columbiformes*) 30%, у трех видов гусеобразных (отряд *Anseriformes*) 25—30%, у двух видов курообразных (отряд *Galliformes*) 20—30%, у пеликана *Pelecanus occidentalis* (отряд *Pelecaniformes*) 36% (табл. 13).

Таблица 13. Структура генома птиц

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля фракций в геноме	Автор, год
Struthioniformes			
Struthionidae			
Struthio camelus (страус)	ОП (удалены до опыта) 4 000 20 1	0,03 0,07 0,87	Eden et al., 1978
Procellariiformes			
Diomedidae			
Diomedea eromophora (альбатрос королевский)	ОП 1 800 1	0,05 0,10 0,85	Наши данные
D chrisostoma (альбатрос сероголовый)	ОП 1 000 1	0,07 0,19 0,74	»
Pelecaniformes			
Pelecanidae			
Pelecanus occidentalis (пеликан бурый)	ОП 40 1	0,15 0,15 0,70	Wagenmann et al., 1981
Charadriiformes			
Alcidae			
Uria aalge (кайра тонкоклювая)	ОП 2 300 1	0,16 0,20 0,64	Наши данные
Anseriformes			
Anatidae			
Cairina domestica (утка мускусная)	ОП 400 1	0,14 0,13 0,73	Erplen et al., 1978
Anas platyrhynchos (кряква)	ОП 330 1	0,15 0,10 0,75	Ломов, 1982
Cygnus olor (лебедь-шипун)	ОП 500 1	0,17 0,13 0,70	»
Galliformes			
Phasianidae			
Gallus domesticus (курица)	ОП 800 1	0,21 0,11 0,68	Erplen et al., 1978

Таблица 13 (окончание)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля фракций в геноме	Автор, год
Gallus domesticus (курица)	ОП	0,08	Arthur, Straus, 1978
	640	0,11	
	1	0,81	
	ОП	—	Jimenez et al., 1974
	1 000 000	0,03	
	330 000	0,03	
	120	0,24	
	1	0,70	
	ОП (удалены до опыта)		Eden, Hendrick, 1978
	1 500	0,08	
Phasianus colchicus (фазан)	15	0,06	
	1	0,86	Гинатулин и др., 1979
	ОП	0,07	
	500	0,15	
	1	0,78	Wagenmann et al., 1981
	ОП	0,13	
	800	0,07	
	1	0,78	
Columbiformes			
Columbidae			
Columba livia (голубь сизый)	ОП	0,8	Erplen et al., 1979
	500	0,12	
	1	0,70	
	ОП	0,19	Газарян и др., 1982
	5 000	0,04	
Passeriformes	50	0,07	
	1	0,69	
Fringillidae			
Junco hyemalis (юнко зимний)	ОП+10 ⁵	0,20	Schields, Straus, 1975
	200	0,16	
	1	0,64	

Примечание. ОП — обращенные повторы.

Любопытно, что количество повторов в геноме курицы, определенное разными авторами, не совпадает. В нашем случае количество очень быстрых и промежуточных повторов составило 6,7 и 15,6% соответственно. В работе Эпплена и соавторов [Erplen et al., 1978] — 21,4 и 13,3%, Артура и Страуса [Arthur, Straus, 1978] — 7,7 и 11,4, Хименеса и соавторов [Jimenez et al., 1974] — 6 и 24 и, наконец, в ра-

боте Розена и соавторов [Rosen et al., 1973] — 0 и 30%, соответственно. Эти различия, возможно, связаны не только с некоторыми различиями в методике, с ошибкой метода и др., нельзя исключить и вероятность внутривидового полиморфизма разных пород, линий домашних кур по количеству тех или иных последовательностей ДНК. В среднем же количество повторов в геномах всех изученных птиц составляет 27%, что в 1,5 раза меньше, чем в среднем в геномах рептилий (42%). На кривых кинетики реассоциации тотальной ДНК удастся выявить, как и у большинства рептилий, лишь одну фракцию с частотой повторяемости 100—5000 и очень быструю фракцию. Реассоциация изолированных повторов позволяет иногда обнаружить умеренно быструю фракцию (десятки тысяч копий) и еще одну очень маленькую редко повторяющуюся (15—50 копий) фракцию [Газарян и др., 1977; Gasaryan et al., 1977; Eden, Hendrick, 1978].

§ 2. Организация генома

Анализируя кривые кинетики реассоциации фрагментов ДНК разной длины, приведенные на рис. 16, можно констатировать, что увеличение длины фрагментов до 2,1 и далее до 6 т.п.н. приводит к очень незначительному изменению кинетических параметров ДНК королевского альбатроса. При 20-кратном увеличении длины фрагментов доля уникальной фракции уменьшается менее чем на 5%. При этом доля промежуточных повторов увеличивается лишь на 2,7%, а очень быстро реассоциирующих — на 2,1%. Такой характер изменений указывает на то, что период чередования повторов и уникальных последовательностей значительно больше 6 т.п.н. и, что следовательно, организация генома королевского альбатроса отличается резко от широко распространенного «Хепорус-типа».

Протяженность повторяющихся и уникальных последовательностей можно грубо рассчитать по формулам, приведенным в работе Крэйна с соавторами [Crain et al., 1976a]. Доля генома, состоящая из уникальных последовательностей, примыкающих к повторам (Y), равняется $Y = L \cdot N / G$, где L — длина фрагментов, N — общее количество перемежающихся последовательностей (уникальных и повторяющихся), G — размер генома. В нашем случае $G = 2,1 \cdot 10^9$ п.н., $L = 6000$ п.н., $Y = 4,8\%$. Тогда уникальные и повторяющиеся последовательности чередуются

$$N = Y \cdot G / L = \frac{0,048 \cdot 2,1 \cdot 10^9}{6000} = 16\,800 \text{ раз в геноме.}$$

Поскольку доля уникальных и повторяющихся последовательностей равняется 85 и 15% соответственно, то средняя протяженность уникальных последовательностей равна 106 т.п.н., а повторяющихся — 19 т.п.н. В связи с малым содержанием повторов возможны некоторые ошибки в оценке доли их в геноме королевского альбатроса.

Аналогичные расчеты для сероголового альбатроса дали следующие значения: длина повторов 45 т.п.н., длина уникальных последовательностей 130 т.п.н.

Период чередования повторов и уникальных последовательностей протяженностью несколько десятков тысяч пар нуклеотидов был назван нами «сверхдлинным», или «альбатросным» по аналогии с коротким «ксенопусным» (менее 2—3 т.п.н.) и умеренно длинным «дрозофильным» (менее 20 т.п.н.).

Кроме альбатросов, сверхдлинный период интерсперсии был выявлен в геноме кайры *Uria aalge* [Гинатулин, 1981], пеликана *Pelecanus occidentalis* [Wagenmann et al., 1981], лебедя-шипуна *Cygnus olor* [Ломов, 1982] и, по-видимому, мускусной утки *Cairina domestica*, хотя авторы и не обсуждают этот вопрос [Erplen et al., 1978]. У многих из этих видов в небольшой степени обнаружено чередование уникальных последовательностей с повторами с коротким периодом. У голубя по данным Эпплена с соавторами [Erplen et al., 1979] коротких уникальных последовательностей очень мало (6%), тогда как по данным Газаряна с соавторами [1982] их несколько больше — около 25%.

Организация генома курицы была изучена двумя способами. Кроме традиционного кинетического метода [Гинатулин и др., 1979], был применен другой метод, предложенный так же как и первый, группой Бриттена—Девидсона [Davidson et al., 1973; Graham et al., 1974]. Вторым методом позволяет более точно определить период чередования последовательностей. Фрагменты со средним размером 0,17; 0,25; 0,32; 0,63; 1,0; 2,5; 9,0; 11,0 и 18,0 т.п.н. (длина фрагмента была определена с помощью электрофореза в денатурирующих условиях) после реассоциации до C_0t 10 пропускались через колонку с ГАП. На рис. 17 доля ДНК, остающаяся связанной с ГАП после элюции 0,12 М фосфатным буфером, отложена по оси ординат, а по оси абсцисс отложены средние значения длины фрагментов. Линия зависимости доли связывания от длины фрагментов имеет две точки перегиба, соответствующие на оси абсцисс отрезкам 0,7 и приблизительно 14 т.п.н. Отсюда следует, что чередующиеся с повторами уникальные последовательности делятся на два

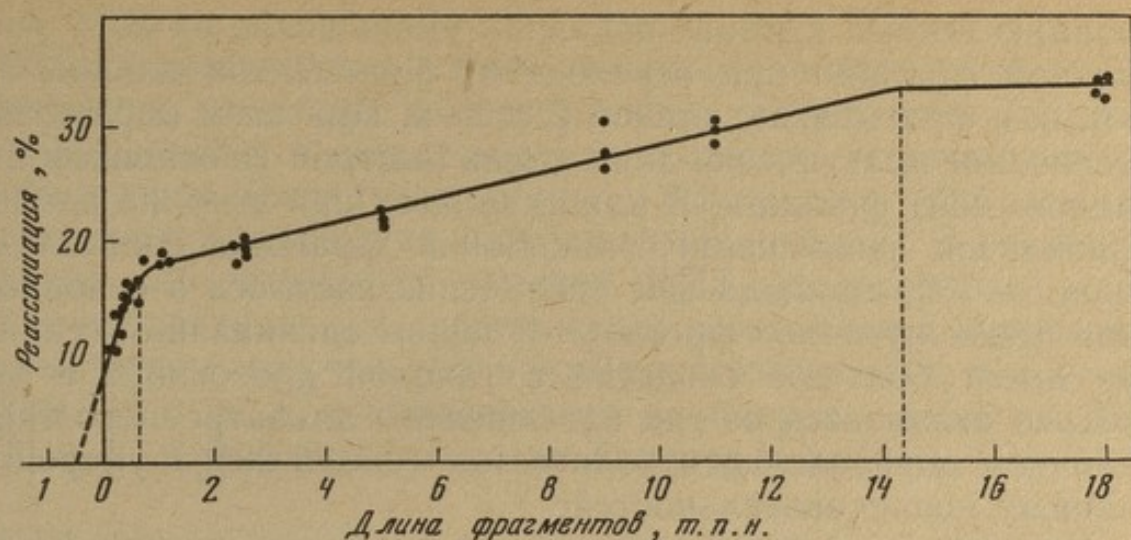


Рис. 17. Зависимость связывания с ГАП реассоциировавших до C_0t 10 фрагментов ДНК курицы *Gallus domesticus* от длины фрагментов

Объяснения в тексте

класса — короткие, длиной 0,7 т.п.н., и длинные, около 14 т.п.н. Длину повторов, чередующихся с уникальными последовательностями с коротким периодом, можно определить, продолжив линию до пересечения с осью абсцисс. Тогда точка пересечения с осью ординат дает долю повторов, чередующихся с коротким периодом (7%), точка пересечения с осью абсцисс — их длину, которая оказалась равной 0,4 т.п.н. (показано пунктиром). Длина коротких уникальных последовательностей равна 0,7 т.п.н., а их количество — 9%. Следовательно, коротким периодом чередования охвачено лишь 15% генома курицы. Другие 20% генома представлены перемежающимися с умеренно длинным периодом. (около 18 т.п.н.) повторяющимися и уникальными последовательностями. Наконец, более половины генома занимают не прилегающие в пределах 18 т.п.н. к повторам уникальные последовательности.

Организация генома курицы была исследована в ряде других лабораторий. Артур и Страус [Arthur, Straus, 1978] также построили зависимость, аналогичную представленной на рис. 17, и не обнаружили короткопериодной интерсперсии. Иден и Хендрик [Eden, Hendrick, 1978] выявили в геноме курицы три типа структур: 40% генома — перемежающиеся между собой повторы длиной 2—4 т.п.н. и уникальные последовательности длиной 4,5 т.п.н., 15% генома — повторы, перемежающиеся с уникальными последовательностями длиной 5—17 т.п.н., остальные 45% генома составляют уникальные последовательности более 17 т.п.н. длиной. Эпплен и соавторы [Epplen et al., 1978], также изучая орга-

низацию генома курицы, показали уменьшение на 20% уникальной фракции при переходе от фрагментов длиной 0,2 т. п. н. к фрагментам длиной 2 т. п. н. При этом наблюдали увеличение практически лишь очень быстрой (в основном палиндромной) фракции. В наших опытах при этих же длинах фрагментов уменьшение уникальной фракции составляло лишь 5—7%, наблюдаемое увеличение касалось в основном доли промежуточной фракции. В целом организация генома кур имеет большое сходство с таковой дрозофилы и несколько отличается от так называемого альбатросного типа наличием определенного количества (около 20%) умеренно длинных последовательностей.

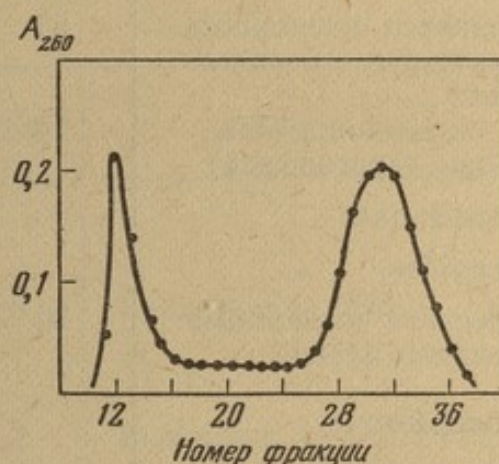
Исходя из приведенных данных по реассоциации ДНК, можно было ожидать, что определение длины повторов с помощью S_1 -нуклеазы выявит преобладание в профилях гель-фильтрации (или на электрофореграммах) очень протяженных дуплексов. Это оказалось действительным лишь для курицы и голубя.

У курицы большая часть дуплексов (70—75%) превышает пределы эффективного разделения биогеля А-15 *m*, т. е. их размеры больше 1—1,5 т. п. н.; лишь небольшая часть дуплексов была короче 1 т. п. н., со средним значением 0,4 т.п.н. [Гинатулин и др., 1979]. Электрофорез дуплексов показал, что среднее значение длины протяженных дуплексов равно 4 т. п. н. Эта величина согласуется с данными других авторов: 2,9 т. п. н. [Erple et al., 1978], 2—4 т. п. н. [Eden, Hendrick, 1978] и 3,4 т. п. н. [Arthur, Straus, 1978]. У голубя длинные дуплексы также составляют 70% всех дуплексов, а короткие дуплексы в количестве менее 30% имеют узкое распределение в пределах 0,13—0,3 т. п. н. [Erple et al., 1979]. В остальных случаях при гель-фильтрации было обнаружено большое количество коротких повторов. Так, у королевского альбатроса короткие дуплексы даже в мягких условиях гидролиза ($DIG. = 0,7$) составили 80% всего нуклеазоустойчивого материала [Ginatulin et al., 1980], у мускусной утки — 70—80% [Erple et al., 1978], у кайры — 60% (рис. 18). При этом короткие дуплексы у кайры имеют очень узкое распределение, в пределах 70—200 п. н., с максимумом, соответствующим длине 120 п. н., а у альбатроса — более широкое, 200—1000 п. н., с максимумом 300 п. н., т. е. в последнем случае длина повторов вполне «ксенопусная» (ср. с профилем для *Xenopus*, приведенным в работе [Britten, Davidson, 1973]).

Анализ данных кинетики реассоциации и гель-фильтрации дуплексов приводит нас к заключению, что повторяющиеся

последовательности в геноме птиц организованы либо в виде кластеров тандемно расположенных субповторов (курица, голубь), либо в виде пермутированных (перемешанных) субповторов (остальные птицы). (Напомним, что схематически и тот и другой тип изображены на рис. 4 Г, Д.) В любом случае повторяющиеся участки ДНК представляют собой блок субповторов, не прерываемый уникальными последовательностями на очень большом расстоянии (4 т. п. н. у курицы, 19 т. п. н. у королевского альбатроса, даже до 80—100 т. п. н. у сероголового альбатроса и кайры).

Рис. 18. Гель-фильтрация S_1 -устойчивых дуплексов ДНК кайры *Uria aalge*



Таким образом, ни у одного из исследованных видов птиц не обнаружен «Хепорус-тип» организации генома (преобладание в геноме коротких уникальных и повторяющихся последовательностей). У большинства видов выявлен «альбатросный тип» (период чередования равен нескольким десяткам т. п. н.). У курицы же найдено большое количество последовательностей, организованных по «дрозофильному типу» (умеренно длинный период чередования, не превышающий 15—20 т. п. н.). Это отличает птиц от их ближайших родственников — рептилий, показывающих большее разнообразие в способах организации генома при почти одинаковом числе исследованных видов. По-видимому, специализация птиц, являющихся, по сути, лишь одной из многочисленных ветвей Sauropsida, сопровождалась унификацией геномной организации.

Краткие сведения по организации генома птиц приведены в табл. 14.

Таблица 14. Организация генома птиц

Вид	Общее содержание уникальных последовательностей, % генома	Доля коротких уникальных последовательностей, % фракции	Автор, год
Procellariiformes			
Diomedidae			
Diomedea eromophora (альбатрос королевский)	85	3	Гинатулин, Гинатулина, 1979а
D. chrisostoma (альбатрос сероголовый)	74	—	Наши данные
Pelecaniformes			
Pelecanidae			
Pelecanus occidentalis (пеликан бурый)	70	—	Wagenmann et al., 1981
Charadriiformes			
Alcidae			
Ardea aalge (кайра тонкоклювая)	64	—	Наши данные
Anseriformes			
Anatidae			
Cairina domestica (утка мускусная)	73	12	Erplen et al., 1978
Anas platyrhynchos (кряква)	75	30	Ломов, 1982
Swgnus olor (лебедь-шипун)	70	—	»
Galliformes			
Phasianidae			
Gallus domesticus (курица)	70 68 81 80 78	20 30 15 — 10	Jimenez et al., 1974 Erplen et al., 1978 Arthur, Straus, 1978 Eden, Hendrick, 1978 Гинатулин и др., 1979
Columbiformes			
Columbidae			
Columba livia (голубь сизый)	70 68	6 25	Erplen et al., 1979 Газарян и др., 1982

§ 3. Размер генома

Еще первые исследователи, пользовавшиеся весьма ненадежными методами, отметили, что содержание ДНК в клетках птиц в 2 раза меньше, чем в клетках млекопитающих. В дальнейшем это наблюдение подтвердилось в работах многих авторов. К настоящему времени мы располагаем сведениями о размерах генома лишь немногим более 30 видов (табл. 15).

Таблица 15. Размеры генома птиц

Вид	пг/2С	Автор, год
Struthioniformes		
Strutionidae		
Strutio camelus	3,8	Eden et al., 1978
Podicipediformes		
Podicipedidae		
Podiceps auritus	4,2	Bachmann et al., 1972
Procellariiformes		
Diomedidae		
Diomedea epomophora	4,2	Наши данные
D. chrisostoma	4,8	»
Pelecaniformes		
Pelecanidae		
Pelecanus occidentalis	3,9 3,6	Bachmann et al., 1972 Wagenmann et al., 1981
Phalacrocoracidae		
Phalacrocorax auritus	4,0	Bachmann et al., 1972
Anseriformes		
Anatidae		
Cairina domestica	3,5	Wagenmann et al., 1981
Ciconiiformes		
Ardeidae		
Ardea herodias	4,0	Bachmann et al., 1972
Galliformes		
Phasianidae		
Gallus domesticus	3,5 1,7—3,5 3,3 4,4 2,2	Те же Shapiro, 1976 Wagenmann et al., 1981 Гинатулин и др., 1979 Eden, Hendrick, 1978; Eden et al., 1978
	2,8	Atkin et al., 1965
Phasianus colchicus	3,2	Wagenmann et al., 1981

Таблица 15 (окончание)

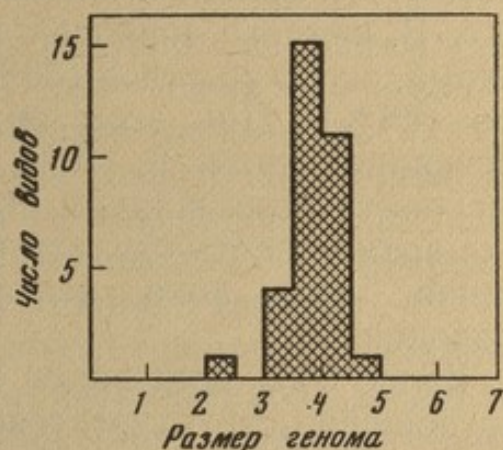
Вид	пг/2С	Автор, год
Numilidae		
Numida meleagris	2,3	Shapiro, 1976
Lariformes		
Laridae		
Larus otresilla	4,0	Bachmann et al., 1972
Thalasseus sandvicensis	3,9	Те же
Columbiformes		
Columbidae		
Columba livia	3,8	Epplen et al., 1979
	3,8	Газарян и др., 1982
	2,0	Vendrely, 1955
	3,9	Atkin et al., 1965
Psittaciiformes		
Psittaciidae		
Melopsittacus undulatus	3,3	Bachmann et al., 1972
	3,2	Atkin et al., 1965
Passeriformes		
Tyrannidae		
Sayornis phoebe	4,0	Bachmann et al., 1972
Corvidae		
Cyanocitta cristata	3,6	Те же
Fringillidae		
Serinus canarius	4,1	»
	3,6	Atkin et al., 1965
Pipilo erythrophthalmus	3,6	Bachmann et al., 1972
Junco hyemalis	3,2	Shields, Straus, 1975
Mimidae		
Toxostoma rufum	3,5	Bachmann et al., 1972
Turdidae		
Sialia sialis	4,0	Те же
Sylviidae		
Polioptilla caerulea	3,8	»
Regulus calendula	3,7	»
Paridae		
Parus carolinensis	4,1	»
Parulidae		
Dendroica coronata	3,8	»
D. dominica	3,9	»
D. palmorum	4,4	»
Icteridae		
Sturnella magna	4,1	»
Agelaius phoeniceus	3,7	»
Sturnidae		
Sturnus vulgaris	3,6	»

Средний размер генома птиц, вычисленный для 31 вида, равен 3,8 пг. Как видно из гистограммы (рис. 19), распределение 2С у птиц очень узкое: 94% видов имеют 2С, варьирующие в пределах 1,5 пг, от 3 до 4,5 пг, а 81% — в пределах 1 пг, от 3,5 до 4,5.

Вариабельность генома у птиц, даже у представителей различных отрядов, значительно ниже таковой их ближайших родственников — рептилий и даже млекопитающих,

Рис. 19. Гистограмма размеров генома у птиц (пг/2С)

Около 80% видов имеют геном, равный 3,5—4,5 пг, среднее значение для 31 вида равно 3,8 пг



где встречаются семейства или роды с гораздо более широкой вариацией, например грызуны семейства Cricetidae (от 5 до 10 пг [Гинатулина, 1982]) или рода Thomomys (от 4 до 11,4 пг [Sherwood, Patton, 1982]). При всем этом птицы демонстрируют широкое морфологическое разнообразие видов. Поскольку в табл. 15 перечислены виды из 11 отрядов, трудно ожидать, что увеличение числа изученных видов даст более широкую картину распределения 2С. Уже не раз цитировавшееся наблюдение различных авторов, что более «примитивные» виды имеют больший геном [Mirsky, Ris, 1950; Hinegardner, 1968, 1976 и др], позволяет надеяться, что у пингвинов геном будет отличаться от среднего в большую сторону, хотя в то же время нужно отметить, что представитель более или менее примитивной группы бескилевых птиц — страус *Strutio camelus* имеет геном, величина которого точно соответствует среднему для птиц, — 3,8 пг.

К настоящему времени более или менее детально исследована структура генома более 50 видов млекопитающих, что составляет приблизительно 40% всех изученных позвоночных. В немного меньшей пропорции изучены организация генома, около 20 видов (30%), и размер генома, более 200 видов (20%). При этом общее количество млекопитающих составляет лишь 8—10% всех позвоночных. Изученность млекопитающих в таком относительно большом объеме дает уже возможность сделать некоторые сопоставления и обобщения, чего пока нельзя сказать о других классах позвоночных.

Более 50% всех видов и подвидов млекопитающих (как в отношении структуры генома, так и в отношении организации генома) изучено нами в лаборатории эволюционной зоологии и генетики Биолого-почвенного института. Основная задача, стоявшая перед нами, сводилась к следующему: изучив молекулярные характеристики генома (содержание, частоту повторяемости, протяженность и взаимное расположение различных групп нуклеотидных последовательностей), сопоставить их с кариотипическими показателями генома, филогенетическими взаимоотношениями видов и размером генома. При этом нас интересовали следующие вопросы:

каков характер изменчивости структуры генома в группах с относительно высокой и относительно низкой скоростью морфо-и кариотипической эволюции?

сопровождается ли изменение числа и морфологии хромосом в эволюции млекопитающих изменениями в структуре или организации генома?

каков характер связи между молекулярными свойствами генома и тонкой структурой хромосом?

за счет каких групп последовательностей может изменяться размер генома у млекопитающих?

существует ли какая-либо корреляция между структурой генома, способом организации генома и филогенией видов?

Для решения этих вопросов были взяты группы видов млекопитающих, хорошо изученные во многих отношениях, а главным образом в отношении интересующих нас показателей так называемые модельные системы видов. При подборе объектов учитывались такие требования во-первых,

чтобы исследуемая группа видов была минимальной по объему, но способной дать наиболее адекватный ответ на поставленный вопрос; во-вторых, чтобы на одной и той же группе можно было решить максимальное количество вопросов; в-третьих, чтобы один и тот же вопрос можно было рассмотреть на разных таксономических уровнях.

Были подобраны следующие модельные системы.

1. Близкородственные виды и подвиды, имеющие очень сходные или очень различающиеся по числу и морфологии хромосом кариотипы.

2. Виды одного рода, характеризующиеся различиями в содержании гетерохроматина в хромосомах при незначительных вариациях других показателей кариотипа.

3. Представители разных родов одного подсемейства, имеющие различия и по числу и по морфологии хромосом в кариотипе, и по содержанию и локализации гетерохроматина в хромосомах, и по размеру генома (хомяки).

4. Представители отрядов млекопитающих, характеризующихся низкой скоростью кариотипической эволюции (ластоногие и китообразные), в сравнении с представителями отряда с относительно высокой скоростью кариотипической эволюции (грызуны).

5. Представители крупных таксономических групп млекопитающих с различиями в размерах генома (еж — насекомоядные и ночница — рукокрылые).

Всего было изучено более 30 представителей млекопитающих из пяти отрядов, включающих 23 вида, а также подвиды, разнохромосомные формы и особи разных популяций одного вида, причем наиболее представленным в наших исследованиях является отряд грызунов, отличающийся высокой степенью как видовой, так и хромосомного полиморфизма.

Полный обзор результатов исследований модельных систем был недавно сделан одним из авторов этих работ — Л. К. Гинатулиной [1982]. В данной главе монографии подробно будут обсуждаться лишь те модельные системы, которые представляют интерес в общетеоретическом плане. В этом смысле детально будут проанализированы результаты исследования еще одной очень интересной группы — приматов, изученных другими авторами. Изложение же материала в систематическом плане поотрядно, на взгляд автора, лишено смысла, так как до 80% всех изученных видов приходится на грызунов и приматов.

Что касается размеров генома млекопитающих, то тут основной вклад внесли исследования Бахманна, а также группы итальянских ученых (Капанна и Манфреди Романини и др.; см. табл. 18).

§ 1. Структура генома

1. Приматы

Отряд приматов примечателен как своим разнообразием, так и в особенности диапазоном этого разнообразия. Диапазон разнообразия приматов составляет примерно пять град (грады по Хаксли [Huxley, 1958] — некий уровень усовершенствования структурной и функциональной организации данного организма): 1) тупайи, близкие к более примитивному отряду насекомоядных; 2) полуобезьяны (лемуры, лори, долгопяты и т. д.); 3) широконосые обезьяны (южноамериканские капуцины, игрунки); 4) узконосые обезьяны (мартышки, павианы, человекообразные обезьяны); 5) человек. Приматы делятся на четыре подотряда, 11 семейств и 60 родов. Если, следуя Симпсону [Simpson, 1949, 1967], в качестве меры скорости эволюции принять число новых родов, возникающих за миллион лет, то приматы характеризуются очень высокими темпами эволюции. Очень высоки у приматов и темпы кариотипической эволюции, т. е. изменения числа хромосом или числа их плеч за миллион лет [Wilson, 1975; Bush et al., 1977].

Приматы хорошо изучены антропологами и кариологами. Составлены целые атласы дифференциально окрашенных хромосом человека. Быстро растет число опубликованных работ по изучению отдельных групп последовательностей с помощью рестрикционных эндонуклеаз, которые нуждаются в отдельном обзоре. Особенно хорошо изучен сам человек.

Что же касается структуры и организации генома в том смысле, в котором обсуждаются они в данной книге, то подробно изученным оказывается лишь геном человека. Кинетика реассоциации ДНК человека была получена и опубликована Бриттеном [Britten, 1969], Сондерсом и соавторами [Saunders et al., 1972], Шмидом и Дэйнинджером [Schmid, Deininger, 1975], Гуммерсоном [Gummerson, 1972], Эрнандесом и соавторами [Hernandez et al., 1978], Торелли и соавторами [Torelli et al., 1979]. Гуммерсон, кроме того, приводит кинетики реассоциации ДНК лори, макаки-резуса, мартышки, павиана, гиббона и шимпанзе.

Наиболее подробно охарактеризована кинетика реассоциации фрагментов длиной 0,4 т. п. н. ДНК плаценты человека, полученная Шмидом и Дейнинджером [Schmid, Deininger, 1975]. Повторяющиеся последовательности, составляющие при этой длине фрагментов 44%, реассоциируют в виде трех кинетических фракций: очень быстро реассоциирующей — 9%, состоящей преимущественно (5,5%) из обращенных повторов, умеренно быстро реассоциирующей — 22%, $C_0t_{1/2}=0,1$ (повторяемость около 50 тыс.) и промежуточной — 12,5%, $C_0t_{1/2}=1,0$ (повторяемость 500). Остальные 52% ДНК реассоциируют медленно и в основном состоят из уникальных последовательностей (табл. 16). Эта фракция, как было выяснено этими же авторами, двухкомпонентна по температуре плавления реассоциатов [Deininger, Schmid, 1979; Fox, Schmid, 1980].

Наличие в геноме человека указанных фракций, а также минорной фракции с повторяемостью 40(4%) было подтверждено разными методами [Houck et al., 1978; Rinehart et al., 1978].

Эрнандес и соавторы сравнивали кинетики реассоциации коротких фрагментов ДНК (0,2—0,25 т. п. н.) человека, выделенных из лейкоцитов и спермы одной и той же группы доноров [Hernandez et al., 1978]. Общая доля повторяющихся последовательностей в ДНК лейкоцитов составила 36%, а в ДНК спермы — 41%. Обогащение ДНК спермы повторами происходит за счет увеличения доли фракции, реассоциирующей при значениях C_0t 10^{-2} — 10^0 . Эта фракция содержит, согласно данным Шмида и Дейнинджера [Schmid, Deininger, 1975], последовательности, повторенные около 50 000 раз на гаплоидный геном. В ДНК спермы обнаружено также повышенное содержание сателлитной ДНК при центрифугировании нативной ДНК в градиенте нейтрального CsCl. Авторы предполагают, что эти специфические для ДНК сперматозоидов последовательности могут служить участками узнавания ДНК аргинин—цистеин богатыми основными белками и, возможно, участвуют в сверхспирализации, стабилизации ДНК и т. д.

Еще одна группа исследователей сравнивала кинетику реассоциации ДНК, выделенной из лимфоцитов здоровых людей и из раковых клеток (острый лейкоз) [Torelli et al., 1979]. Как подытожили сами авторы, существенных отличий обоих типов ДНК не было обнаружено. Некоторые отличия в частоте повторяемости и содержании отдельных классов последовательностей (табл. 16) авторы объясняют низкой чувствительностью метода.

Таблица 16. Структура генома млекопитающих

Вид	Частота повторе- мости фракций	Доля фракции в геноме	Автор, год
Insectivora			
Erinaceidae			
<i>Erinaceus amurensis</i> (еж амурский)	ОП 75 000 900 1	0,20 0,11 0,11 0,58	Гинатулин, Гинату- лина, 1979а
<i>E. algirus</i> (еж алжир- ский)	ОП 10 ⁴ —10 ⁵ 10 ² —10 ³ 1	0,14 0,23 0,18 0,45	
Chiroptera			
Vespertilionidae			
<i>Myotis</i> sp. (ночница)	ОП 32 000 320 1	0,17 0,13 0,05 0,65	Гинатулин, Гинату- лина, 1979а
Primates			
Lorisidae			
<i>Nycticebus pygmaeus</i> (лори карликовый)	ПП 1	0,33 0,67	Gummerson, 1972
Cercopithecidae			
<i>Macaca mulatta</i> (ма- кака-резус)	ПП 1	0,29 0,71	»
	ПП 1	0,35 0,65	
<i>Papio</i> sp. (павиан)	ПП 1	0,47 0,53	Gummerson, 1972
<i>Cercopithecus pygery- thrus</i> (верветка)	ПП 1	0,40 0,60	Marx et al., 1979
<i>C. aethiops</i> (мартышка зеленая)	ПП 1	0,43 0,57	
	1 000 000 4 200 1	0,21 0,15 0,61	Singer, 1979
Pongidae			
<i>Hylobates lar</i> (гиббон)	ПП 1	0,31 0,69	Gummerson, 1972
<i>Pongo pygmaeus</i> (орангутан)	ОП 25 000 250—2 500 1	0,06 0,24 0,04 0,64	Marx et al., 1979
<i>Pan troglodytes</i> (шим- панзе)	ПП 1	0,39 0,61	Gummerson, 1972
	ПП 1	0,37 0,63	
			Marx et al., 1979

Таблица 16 (продолжение)

Вид	Частота повторности фракций	Доля фракции в геноме	Автор, год
Hominidae			
<i>Homo sapiens</i> (человек, плацента)	ОП	0,09	Schmid, Deininger, 1975
	50 000	0,22	
	500	0,13	
	40	0,04	
	1	0,52	Gummerson, 1972
	ПП	0,42	
	1	0,58	Marx et al., 1979
	ПП	0,45	
	1	0,55	Torelli et al., 1979
(лейкоциты)	ОП	0,04	
	2 000 000	0,13	
	6 200	0,09	
	1	0,66	Те же
(раковые клетки)	ОП	0,05	
	180 000	0,12	
	20	0,16	
	1	0,62	
Rodentia			
Sciuridae			
<i>Sciurus carolinensis</i> (белка каролинская)	ОП	—	Santiago, Rake, 1973
	24 000	0,11	
	170	0,31	
	1	0,58	Те же
<i>Tamias striatus</i> (бурндук восточный)	ОП	—	
	6 700	0,12	
	99	0,13	
	1	0,75	Гинатулин, Гинатулина, 1979a
<i>Marmota sibirica</i> (тарбаган)	ОП	0,27	
	44 000	0,08	
	130	0,13	
	1	0,53	Те же
<i>M. baibacina</i> (сурок серый)	ОП	0,27	
	44 000	0,08	
	130	0,13	
	1	0,53	Ginatulina et al., 1982
<i>Citellus undulatus</i> (суслик длиннохвостый)	ОП	0,08	
	60 000	0,12	
	300	0,14	
	1	0,66	Те же
<i>C. parryi</i> (суслик арктический)	ОП	0,13	
	83 000	0,12	
	420	0,13	
	1	0,62	»
<i>C. relictus</i> (суслик реликтовый)	ОП	0,09	
	60 000	0,15	

Таблица 16 (продолжение)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля фракции в геноме	Автор, год
	300	0,10	
	1	0,67	
<i>C. citellus</i> (суслик европейский)	ОП	0,06	Ginatulina et al., 1982
	53 000	0,14	
	270	0,20	
	1	0,60	
<i>C. dauricus</i> (суслик даурский)	ОП	0,23	Те же
	57 000	0,12	
	280	0,18	
	1	0,47	
<i>C. pygmaeus</i> (суслик малый)	ОП	0,13	»
	42 000	0,15	
	420	0,12	
	1	0,61	
<i>C. major</i> (суслик большой)	ОП	0,20	»
	83 000	0,14	
	420	0,11	
	1	0,54	
<i>C. fulvus</i> (суслик желтый)	ОП	0,17	»
	83 000	0,13	
	420	0,11	
	1	0,59	
Muridae			
<i>Mus musculus</i> (мышь домовая)	ОП	—	Santiago, Rake, 1973
	100 000	0,10	
	380	0,13	
	1	0,77	
	ОП	0,11	Straus, Birnboim, 1974
	47 000	0,15	
	600	0,14	
	1	0,60	
	ОП	0,03	Cech, Hearst, 1976
	560 000	0,09	
	13 000	0,14	
	250	0,11	
	1	0,58	
<i>Rattus rattus</i> (крыса черная)	ОП	—	Santiago, Rake, 1973
	40 000	0,13	
	190	0,19	
	1	0,70	
<i>R. norvegicus</i> (крыса серая)	ОП	0,10	Jagodzinski et al., 1978
	8 400	0,22	
	80	0,09	
	1	0,58	
	ОП	—	Прима и др., 1980
	300 000	0,18	
	600	0,08	
	40	0,07	

Таблица 16 (продолжение)

Вид	Частота повторе- мости фракций	Доля фракции в геноме	Автор, год
	1	0,67	
	ОП	0,09	Pearson et al., 1978
	6 000	0,18	
	13	0,20	
	1	0,53	
Cricetidae			
Gerbillus gerbillus (песчанка)	ОП	—	Santiago, Rake, 1973
	15 000	0,13	
	140	0,14	
	1	0,73	
Microtus pennsylvani- cus (полевка)	ОП	—	Те же
	10 600	0,11	
	120	0,17	
	1	0,72	
M. oeconomus oecono- mus (полевка-экономка)	ОП	—	Владыченская и др., 1974
	39 000	0,13	
	45	0,17	
	1	0,70	
M. o. chachlovi	ОП	—	Те же
	39 600	0,10	
	810	0,07	
	47	0,14	
	1	0,69	
M. arvalis (полевка обыкновенная)	ОП	—	»
	55 000	0,12	
	1 260	0,10	
	57	0,14	
	1	0,64	
Ellobius talpinus (2n= =34, 54) (слепушонка обыкновенная)	ОП	0,11	Гинатулин и др., 1977
	6 000	0,11	
	80	0,17	
	1	0,61	
E. lutescens (слепушой- ка закавказская)	ОП	0,14	Те же
	4 000	0,13	
	80	0,18	
	1	0,55	
Dicrostonyx torquatus (лемминг копытный)	ОП+10 ⁴	0,23	Владыченская и др., 1978
	10 ² —10 ³	0,18	
	1	0,60	
	ОП+10 ⁴	0,10	Те же
	10 ² —10 ³	0,15	
	1	0,75	
Peromyscus pennsylva- nicus (хомячок пен- сильванский)	ОП	—	Santiago, Rake, 1973
	19 400	0,13	
	170	0,11	
	1	0,76	

Таблица 16 (продолжение)

Вид	Частота повторности фракций	Доля фракции в геноме	Автор, год
<i>Cricetus cricetus</i> (хомяк обыкновенный)	ОП 10 000 92 1	— 0,13 0,22 0,76	Те же
	ОП 20 000 200 1	0,05 0,12 0,22 0,62	Наши данные
<i>Phodopus sungorus</i> (хомячок джунгарский)	ОП 900 1	0,16 0,21 0,63	Leipoldt et al., 1982
<i>Cricetulus barabensis</i> (хомячок даурский)	ОП 80 000 250 1	0,03 0,10 0,18 0,70	Наши данные
<i>C. migratorius</i> (хомячок серый)	ОП 31 000 125 1	0,04 0,13 0,24 0,59	То же
<i>C. griseus</i> (хомячок китайский)	ОП 10 ⁴ —10 ⁵ 10 ² —10 ³ 1	0,05 0,13 0,13 0,69	McLachlan et al., 1979
<i>Tscherskia triton</i> (хомячок крысовидный)	ОП 57 000 220 1	0,13 0,13 0,17 0,57	Наши данные
<i>Mesocricetus auratus</i> (хомячок золотистый или сирийский)	ОП 40 000 290 1	0,06 0,13 0,24 0,57	»
	ОП 2 000 000 1 000 1	0,03 0,02 0,35 0,60	Moyzis et al., 1981a
	ОП 750 1	0,12 0,25 0,64	Leipoldt et al., 1982
<i>Artiodactyla</i> <i>Suidae</i> <i>Sus scrofa</i> (свинья)	ОП 10 000 100 1	0,05 0,10 0,35 0,50	Avvedimento et al., 1976
<i>Cervidae</i> <i>Muntiacus muntjak</i> (мунтжак индийский)	ОП 10 000 1	0,29 0,12 0,59	Schmidtke et al., 1981

Таблица 16 (окончание)

Вид	Частота повторе- мости фракций	Доля фракции в геноме	Автор, год
<i>M. reevesi</i> (мунтжак Ривса)	ОП 600 1	0,31 0,20 0,49	Те же
<i>Boidae</i> <i>Bos taurus</i> (бык)	ОП 1 000 000 60 000 1	0,03 0,02 0,38 0,55	Davidson, Britten, 1973
<i>Cetacea</i> <i>Balaenopteridae</i> <i>Balaenoptera edeni</i> (кит Брайда)	ОП 83 000 830 1	0,10 0,10 0,12 0,68	Наши данные
<i>Physeteridae</i> <i>Physeter catodon</i> (ка- шалот)	ОП 83 000 830 1	0,10 0,07 0,16 0,68	»
<i>Pinnipedia</i> <i>Otariidae</i> <i>Callorhinus ursinus</i> (ко- тик северный морской)	ОП 83 000 830 1	0,07 0,09 0,16 0,68	»
<i>Eumetopias jubatus</i> (сивуч)	ОП 100 000 1 000 1	0,10 0,11 0,14 0,64	»
<i>Phocidae</i> <i>Phoca largha</i> (лапра)	ОП 73 000 550 1	0,05 0,06 0,10 0,79	»

Примечание. ОП — обращенные повторы; ПП — общее количество повторяющихся последовательностей.

Менее детально была исследована структура генома других приматов. Кинетические кривые, полученные Гуммерсоном и опубликованные в работе Джонса [Jones, 1976], проведены через шесть—восемь точек, тогда как кривая, полученная Шмидом и Дейнинджером, проведена через 107 экспериментальных точек. Тем не менее кинетика реассо-

циации ДНК человека имеет сходный профиль в обоих случаях. Численное значение общей доли повторов в геномах некоторых приматов приведено и в работе Маркса и соавторов [Marx et al., 1979], но кинетические кривые ими не были получены.

На кривых кинетики реассоциации ДНК лори, павиана, мартышек, шимпанзе и гиббона можно усмотреть те же фракции, что и на кривой, полученной для ДНК человека. Однако содержание отдельных фракций сильно варьирует. Наименьшее количество повторов обнаружено в геноме макаки-резус и лори — 29—33%, наибольшее — в геноме павиана — 47% (см. табл. 16). Вариация обусловлена главным образом умеренно быстро реассоциирующей фракцией повторов (C_0t 10^{-3} —1). Доля этой фракции даже у представителей семейства человекообразных обезьян сильно варьирует — от 10 (гиббон) до 25% (человек), а у представителей семейства мартышек вариация еще больше — от 15 (резус) до 35—40% (павиан и зеленая мартышка).

Таким образом, исходя даже из этих весьма немногочисленных данных, можно сказать, что структура генома у приматов при качественном однообразии в количественном отношении варьирует очень сильно, отражая, по-видимому, высокую скорость морфологической и кариотипической эволюции группы в целом.

2. Грызуны: робертсоновский веер разнохромосомных форм слепушонок, род *Ellobius* (Cricetidae)

Род слепушонок *Ellobius* представляет собой великолепную модельную систему для изучения вопроса, сопровождается ли изменение числа и морфологии хромосом в эволюции млекопитающих (только ли млекопитающих?) изменениями молекулярной структуры генома. Во-первых, в кариотипе одного из видов этого рода — закавказской слепушонки *E. lutescens* содержится лишь 17 метацентрических хромосом ($2n$), тогда как у других видов — *E. fuscicapillus* и *E. talpinus* (в большей части ареала) — в кариотипе содержится соответственно 36 и 54 хромосомы. Во-вторых, один из трех хромосомных робертсоновских вееров форм, и до настоящего времени единственный для СССР, обнаружен именно у обыкновенной слепушонки *E. talpinus*. В пределах узкого ареала в районе Памиро-Алая на расстоянии около 200 км обыкновенная слепушонка имеет поразительно широкую изменчивость числа хромосом при постоянном числе плеч NF —56

В нашей лаборатории в результате интенсивных исследований, проводимых под руководством Н. Н. Воронцова и Е. А. Ляпуновой с 1966 по 1980 г., обнаружено 16 разнотелосомных форм обыкновенной слепушонки: $2n = 31, 32, 33, 34, 36, 38, 40, 42, 43, 44, 46, 48, 51, 52, 53$, и 54 [Луарипова et al., 1980a]. Между этими формами не найдено каких-либо серьезных различий по морфологии [Якименко, Воронцов, 1980, 1982] и по частотам электрофоретических вариантов белков [Луарипова et al., 1980a].

Проведенные в виварии гибридологические эксперименты показали существование лишь частичной репродуктивной изоляции между разнотелосомными *E. talpinus*, что подтверждает возможность гибридного происхождения робертсоновского веера из Памиро-Алая. Все эти данные указывают на недавность телосомной дифференциации внутри *E. talpinus* [Ляпунова, Якименко, 1980; Луарипова et al., 1980a]. Вероятно, в настоящее время в районе Памиро-Алая протекает интенсивный видообразовательный процесс, начинающийся с преобразования телосом [Воронцов, 1980].

Прежде чем приступить к изучению кинетики реассоциации ДНК разнотелосомных форм слепушонок, необходимо было проверить, не представляют ли внутривидовые различия в кинетических характеристиках ДНК обычное явление для млекопитающих, тем более что подобные примеры в литературе имеются. Так, А. С. Антонов с сотрудниками при исследовании кинетики реассоциации ДНК полевок (род *Microtus*) нашли больше различий между подвидами *M. oeconomus*, чем между одним из подвигов *M. oeconomus* и *M. arvalis* [Антонов, 1973; Владыченская и др., 1974; Вальехо-Роман и др., 1975] (см. также табл. 16). Для решения этого вопроса мы сопоставили кинетику реассоциации ДНК кариологически очень сходных (в данном случае это основной признак) близкородственных животных. Были изучены: 1) представители разных популяций одного вида — северного морского котика *Callorhinus ursinus* с о-ва Медный (Командоры) и о-ва Тюлений (Сахалин); длиннохвостого суслика *Citellus undulatus* из Читинской и Иркутской областей (подвид *C. u. undulatus*); арктического суслика *C. parryi* из разных точек Магаданской области (подвид *C. p. tschuktschorum*); 2) разные подвиды длиннохвостого суслика *C. undulatus* — *C. u. undulatus*, *C. u. eversmanni* и *C. u. menzbieri*, арктического суслика *C. parryi* — *C. p. japonensis*, *C. p. tschuktschorum*; 3) разные, но настолько близкие между собой виды сурков, что их видовой статус не бесспорен, — *Marmota sibirica* и *M. baibacina*.

Если бы в результате исследования были обнаружены различия в ДНК на этих достаточно низких таксономических уровнях при большом кариологическом сходстве, то значение исследования разнохромосомных форм одного вида в целях изучения механизмов хромосомных перестроек в эволюции методом реассоциации ДНК было бы существенно снижено. Однако этого не случилось. Результаты всех трех серий экспериментов показали, что в пределах 1,5—2,5% ошибки эксперимента (при уровне значимости 95%) кривые кинетики реассоциации сравниваемых животных практически совпали. Подробно эти эксперименты описаны в предыдущих наших работах [Ким и др., 1978; Гинатулин, Гинатулина, 1979а; Ginatulina et al., 1980; Гинатулина, 1982].

Таким образом, исследования структуры генома ластоногих и грызунов на внутривидовом уровне различий не обнаружили. Следовательно, внутривидовая дивергенция по молекулярной структуре генома, вероятнее всего, не представляет собой частое явление у млекопитающих. В таком случае можно предполагать, что если бы были обнаружены различия в структуре генома у разнохромосомных форм слепушонок, то они могли бы быть отнесены только за счет перестроек хромосом.

Нами исследована кинетика реассоциации коротких фрагментов ДНК (0,35 т. п. н. в среднем) двух разнохромосомных форм обыкновенной слепушонки *Ellobius talpinus* с $2n = 34$ и $2n = 54$ и ДНК закавказской слепушонки *E. lutescens* с $2n = 17$.

Кривые кинетики реассоциации фрагментов ДНК *E. talpinus* с $2n = 34$ и $2n = 54$ полностью совпали. При оценке экспериментальных данных по методу наименьших квадратов наилучшее решение получается, если предположить существование четырех кинетических фракций: очень быстро реассоциирующей ($C_0t < 10^{-2}$), быстро реассоциирующей ($C_0t_{1/2} = 0,5$, повторяемость 6000), промежуточной ($C_0t_{1/2} = 40$, повторяемость 80) и медленно реассоциирующей ($C_0t_{1/2} = 3100$, неповторяющаяся фракция).

В кинетическом эксперименте вместе с ДНК слепушонок в качестве стандарта исследовалась ДНК белой крысы *Rattus norvegicus*. Это позволило оценить величину генома слепушонок путем сравнения значений $C_0t_{1/2}$ уникальных фракций ДНК. Размер генома обеих форм *E. talpinus* оказался равным размеру генома крысы, а у *E. lutescens* — немного меньше. Поскольку величина генома крысы, согласно Бахманну [Bachmann, 1972], равняется 4 пг (1С), то геном *E. talpinus* равен также 4 пг, а геном *E. lutescens* —

3,7 пг. Эти значения очень близки к таковым, полученным методом цитофотометрии ДНК [Ляпунова и др., 1979]. При сравнении абсолютных величин кинетических фракций ДНК слепушонок видно, что *E. lutescens* содержит меньше уникальных последовательностей (2,06 против 2,45 пг у *E. talpinus*) при практически одинаковом количестве повторяющихся последовательностей.

Уменьшение или увеличение числа хромосом при неизменном числе их плеч — довольно распространенное явление в эволюции близких видов. В большинстве случаев этот процесс, впервые описанный Робертсоном в 1916 г. [Robertson, 1916], затрагивает небольшое число хромосом, и лишь в робертсоновских веерах форм наблюдается значительно большее число перестроек. В частности, у изученной нами *E. talpinus* при переходе от 54-хромосомного кариотипа к 34-хромосомному (а в случае слепушонок идет именно слияние, а не разделение хромосом) было вовлечено в транслокации 40 хромосом, или 20 пар. Относительно механизма робертсоновских транслокаций существует несколько гипотез [Навашин, 1957; White, 1957; Воронцов, 1966; Wurster, Benirschke, 1970; John, Freeman, 1975; Matthey, 1976]. Независимо от механизма слияния двух акроцентрических хромосом с образованием метацентрической у слепушонок этот процесс может проходить либо с утратой части хромосом, либо без нее.

Совпадение кривых кинетики реассоциации ДНК 34- и 54-хромосомных слепушонок свидетельствует о том, что, по-видимому, никаких существенных изменений в количестве всей ДНК, а также отдельных групп последовательностей при робертсоновских слияниях хромосом у *E. talpinus* не происходило.

Переход от 54-хромосомного предкового акроцентрического кариотипа, свойственного высокохромосомным формам *E. talpinus*, к 17-хромосомному кариотипу *E. lutescens* не мог произойти только лишь на основе перестроек робертсоновского типа. Робертсоновские слияния могли дать гипотетическую форму с $2n = 28$, а дальнейшее уменьшение числа хромосом до $2n = 17$ должно было идти путем tandemных слияний хромосом с элиминацией одной из центромер с прилегающей прицентромерной ДНК. Прицентромерной гетерохроматин у многих изученных видов эукариот обогащен преимущественно высокоповторяющимися последовательностями ДНК, поэтому у разнохромосомных *Ellobius* мы ожидали различия в содержании, прежде всего быстро реассоциирующих последовательностей. Однако относительное содержа

ние последовательностей, реассоциирующих при значениях C_0t меньше 100, у *E. lutescens*, не меньше, а даже больше, чем у *E. talpinus*. По абсолютному же содержанию количество повторяющихся последовательностей у всех *Ellobius* одинаково, а количество уникальных (или очень мало повторяющихся) последовательностей у *E. lutescens* меньше примерно на 0,4 пг (около 10%).

Еще более парадоксальный случай хромосомного полиморфизма обнаружили Вюрстер и Бениршке у оленей-мунтжаков [Wurster, Benirschke, 1970]. Китайский мунтжак *Muntiacus reevesi*, обитающий в Восточном Китае и на Тайване, имеет 46 хромосом в кариотипе, а индийский мунтжак *Muntiacus muntjak*, обитатель Индии, стран Индокитая и Индонезии, имеет только шесть (самки) или семь (самцы) хромосом в кариотипе ($2n$). Размер генома индийского мунтжака на 20—30% меньше, чем китайского [Wurster, Atkin, 1972; Matthey, 1973]. Исследование кинетики реассоциации ДНК этих видов, проведенное Шмидтке и соавторами [Schmidtke et al., 1981], показало, что у *M. muntjak* значительно меньше промежуточных повторов, чем у *M. reevesi*, как по относительному, так и по абсолютному содержанию (см. табл. 16). Содержание же уникальных последовательностей и высокоповторяющихся (и/или обращенных повторов) приблизительно одинаково.

Таким образом, в результате этих исследований мы можем сделать вывод, что внутривидовые изменения числа хромосом и их морфологии робертсоновского типа не сопровождаются изменением структуры генома, тогда как тандемные, нецентрические слияния хромосом сопровождаются потерей ДНК, главным образом за счет мало повторяющихся или уникальных последовательностей.

3. Грызуны: суслики рода *Citellus* (Sciuridae) как виды, характеризующиеся различиями в тонкой структуре хромосом

Если изменение числа и морфологии хромосом, по крайней мере робертсоновского типа, не сопровождается изменениями структуры генома, то возникает вопрос: будут ли найдены различия в структуре генома, а если да, то каков их характер у близких видов, имеющих небольшие различия в числе и морфологии хромосом (при обычной окраске), но отличающихся по количеству С-окрашивающегося гетерохроматина в хромосомах? В этом аспекте исследована кинетика реассоциации коротких фрагментов ДНК видов сусликов.

Для сусликов геологический возраст дивергенции в годах практически совпадает с числом поколений [Vorontsov et al., 1980a]. Геологическая история сусликов хорошо известна [Громов и др., 1965]. Внутри рода *Citellus* имеются формы, находящиеся на различных стадиях эволюции — от подвидов и видов в состоянии зарождения до типичных «хороших» видов [Vorontsov et al., 1980a]. Все эти качества делают род *Citellus* не только интересным, но и удобным объектом для эволюционных и особенно для молекулярно-генетических исследований. В связи с этим следует еще раз отметить, что в молекулярной генетике, как и во всякой другой новой области исследований, особое место занимают работы по изучению близкородственных видов, хорошо изученных с разных сторон. В этом случае результаты, полученные на молекулярном уровне, можно всегда соотнести с известными аспектами фенотипической дивергенции видов, что уже само по себе важно ввиду отсутствия функциональной теории видообразования.

Суслики рода *Citellus* широко распространены в равнинных и горных степях, лесостепях и в зоне тундростепей Евразии и Северной Америки. Этот голарктический род, согласно И. М. Громову и соавторам [1965], насчитывает 20 современных видов (из них 12 в фауне СССР) и включает три подрода: подрод длиннохвостых сусликов *Urocitellus* (три вида), подрод настоящих сусликов *Citellus* s. str. (14 видов) и подрод пустынно-степных сусликов *Colobotis* (три вида). Представитель подрода *Citellus* реликтовый суслик *C. relictus*, по мнению И. М. Громова, сочетает признаки подродов *Citellus* и *Urocitellus*. Другой представитель подрода *Citellus* — малый суслик *C. pygmaeus* по многим признакам занимает промежуточное положение между подкладами *Citellus* и *Colobotis*. Для рода *Citellus* проведены обширные кариологические исследования [Nadler, 1966; Воронцов, Ляпунова, 1969, 1970, 1972], которые продемонстрировали цитогенетическое разнообразие рода. Число хромосом у *Citellus* варьирует от $2n = 30$ до $2n = 46$, и большую группу среди них составляют виды с $2n = 36$. По мнению Н. Н. Воронцова и Е. А. Ляпуновой [1970], древнейшими из современных представителей рода являются виды с большим числом хромосом (*C. citellus*, $2n = 40$; *C. xanthopymnus*, $2n = 42$; *C. vigilis*, $2n = 46$), а самыми молодыми — виды с малым числом хромосом (*C. undulatus*, $2n = 32$; *C. parryi*, $2n = 34$). Для некоторых видов сусликов была исследована картина дифференциального окрашивания хромосом. Показано, что хромосомы этих видов сусликов имеют много

общего в распределении G-полос [Ляпунова и др., 1978] и в то же время значительно варьируют по относительному содержанию и распределению C-полос (от 20 до 32%) [Ляпунова и др., 1978; Lyapunova et al., 1980b].

В нашей лаборатории проведено исследование структуры генома восьми видов сусликов из всех трех подродов: *C. (Urocitellus) undulatus* ($2n = 32$), *C. (Urocitellus) parryi* ($2n = 34$), *C. (Citellus) relictus* ($2n = 36$), *C. (Citellus) dauricus* ($2n = 36$), *C. (Citellus) pygmaeus* ($2n = 36$), *C. (Citellus) citellus* ($2n = 40$), *C. (Colobotis) fulvus* ($2n = 36$) и *C. (Colobotis) major* ($2n = 36$).

Кинетика реассоциации коротких фрагментов ДНК для всех видов была получена в идентичных условиях, с использованием от двух до пяти параллельных проб при каждом значении C_0t . В параллельном эксперименте в этих же условиях была снята кинетика реассоциации ДНК *E. coli* при длине фрагментов 0,3 т. п. н. [Ginatulina et al., 1982]. Средне-квадратичное отклонение кривой от экспериментальных точек в большинстве случаев было не более 2,5%. В ДНК сусликов выявляются четыре кинетические фракции: очень быстро реассоциирующая ($C_0t < 10^{-3}$), быстро реассоциирующая ($C_0t \cdot 10^{-3} - 6 \cdot 10^{-1}$), промежуточная ($C_0t \cdot 6 \cdot 10^{-1} - 6 \cdot 10^1$) и медленно реассоциирующая ($C_0t > 6 \cdot 10^1$). Параметры кинетических компонентов, полученные после нормализации данных к 100%-ному уровню, приведены в табл. 16.

Одноименные кинетические фракции ДНК разных видов сходны между собой по скорости реассоциации и, следовательно, по частоте повторяемости, но в то же время отличаются по относительному содержанию в геноме. Около половины генома *Citellus* представлено последовательностями медленной фракции, частота повторяемости которых равна единице. Наиболее изменчивой по относительному содержанию в геноме является очень быстрая фракция, которая колеблется от 6 до 23%. Меньшей, но все же заметной вариабельностью характеризуется промежуточная фракция ДНК — от 10 до 20% (повторяемость 300—400). Очень малой изменчивостью характеризуется доля быстрой фракции (повторяемость 40—80 тыс.) — от 12 до 14,5%. Доля уникальной фракции изменяется от 47 до 67%, а величина $C_0t_{1/2}$ ее — от 1600 до 2500. Различия в скорости реассоциации этой фракции обусловлены, с одной стороны, различиями в размере взятых в опыт фрагментов ДНК (0,25—0,42 т. п. н.), а с другой стороны, возможными различиями в геномном размере этих видов. Сравнение кинетических параметров ДНК у видов из разных подродов показывает,

что молекулярная структура генома весьма сходна у представителей подрода *Urocitellus* (*C. undulatus* и *C. parryi*) и еще более сходна у представителей подрода *Colobotis* (*C. major* и *C. fulvus*). Наблюдаемые в геномах этих видов небольшие различия, в пределах 4—5%, касаются главным образом доли очень быстро реассоциирующих последовательностей ДНК. Внутри же подрода *Citellus* s. str. характеристики молекулярной структуры генома варьируют значительно. У изученных представителей этого подрода наблюдается весь размах изменчивости кинетических параметров ДНК, который выявлен у рода *Citellus* в целом. Вместе с ДНК сусликов в идентичных условиях была снята кинетика реассоциации фрагментов ДНК длиной 300 п. н. кишечной палочки *E. coli*. В данных условиях эксперимента значение $C_0t_{1/2}$ ДНК *E. coli* равнялось трем. Поскольку длина фрагментов ДНК у разных видов различалась, используемые при вычислении размера генома значения $C_0t_{1/2}$ уникальной фракции их ДНК были предварительно скорректированы к значениям $C_0t_{1/2}$ при длине фрагментов 300 п. н., при применении известного соотношения между скоростью реассоциации и длиной фрагментов [Wetmur, Davidson, 1968].

Размеры генома *Citellus* варьируют в диапазоне от 2,72 пг у *C. dauricus* до 3,87 пг у *C. pygmaeus* и *C. fulvus*.

В разной степени варьирует и сложность (абсолютное содержание) каждой из кинетических фракций. Расчеты показали, что количество ДНК в составе последовательностей очень быстрой фракции варьирует от 0,17 до 0,75 пг, а в составе других повторяющихся фракций — в меньших пределах.

Интересно было выяснить, за счет последовательностей каких фракций изменялся размер генома сусликов. С этой целью количество ДНК в каждой фракции было отложено против общего количества ДНК во всем геноме для каждого вида (рис. 20) и оценена величина корреляции между этими показателями. Анализ данных показал, что только промежуточная фракция совершенно не коррелирует по количеству с размером генома (коэффициент корреляции $r = -0,15$) (рис. 20, в). Наилучшая корреляция с размером генома отмечена у последовательностей быстрой фракции ($r = 0,92$). Несколько слабее такая связь выглядит у последовательностей очень быстрой фракции ($r = 0,51$) за счет отклонения точки, принадлежащей *C. dauricus*. Без учета же этой точки, т. е. для всех остальных видов сусликов, изменение содержания очень быстрой фракции очень хорошо коррелирует с изменением размера генома ($r = 0,86$). Хоро-

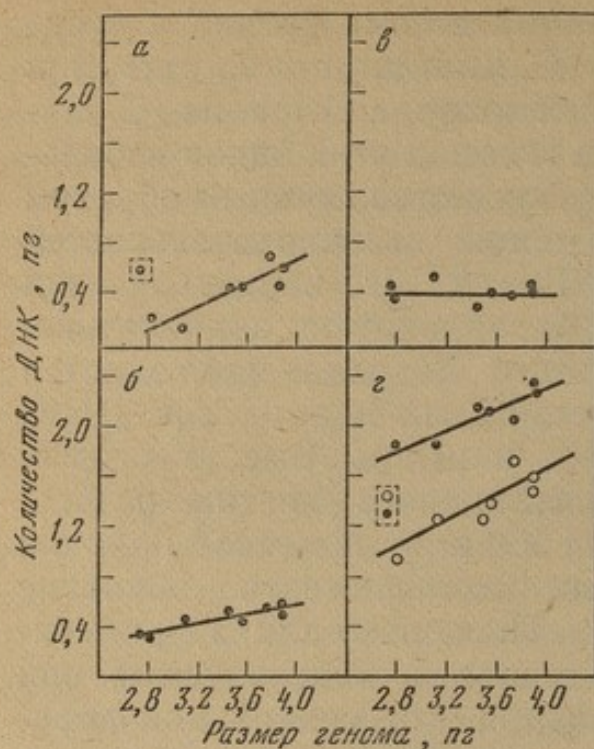


Рис. 20. Взаимоотношение между размером генома восьми видов сусликов рода *Citellus* и количеством ДНК в отдельных кинетических фракциях

а — очень быстрая фракция ($C_0t=10^{-3}$), коэффициент корреляции $r=0,51$ (без учета точки, принадлежащей *C. dauricus*, $r=0,86$); б — быстрая фракция ($C_0t_{1/2}$ 0,03—0,06, $r=0,92$); в — промежуточная фракция ($C_0t_{1/2}$ 6, $r=-0,15$); г — уникальная фракция ($C_0t>6 \cdot 10^1$, $r=0,87$) и тотальная фракция повторов (обозначено светлыми кружками) ($C_0t<6 \cdot 10^1$, $r=0,68$; без учета *C. dauricus* $r=0,92$). Обведены точки для *C. dauricus*, не укладывающиеся в линейную зависимость

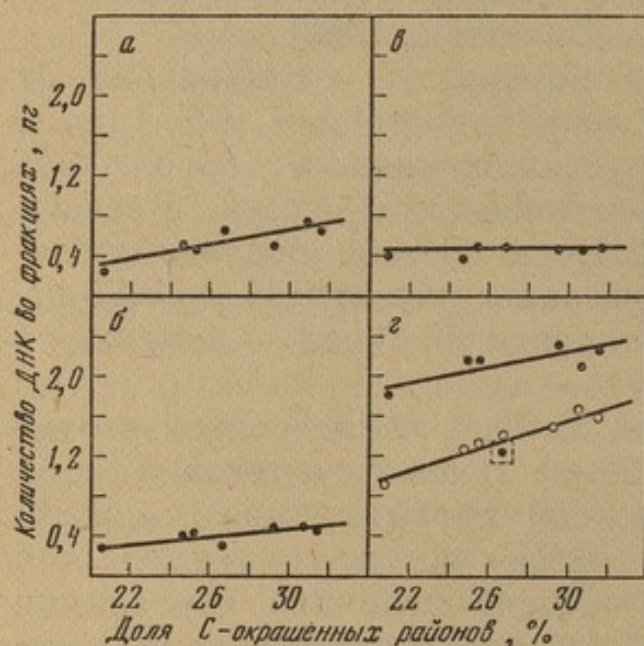


Рис. 21. Взаимоотношение между количеством ДНК в отдельных кинетических фракциях и долей С-гетерохроматина в хромосомах семи видов сусликов *Citellus*

а — очень быстрая фракция; б — быстрая фракция; в — промежуточная фракция; г — суммарная фракция повторов (обозначено светлыми кружками), $r=0,96$, и медленная (уникальная) фракция, без учета *C. dauricus* (точка обведена) $r=0,63$, с учетом его $r=0,33$

шо коррелирует с размером генома и количество уникальных последовательностей ($r = 0,87$). Особенностью *C. dauricus* является то, что этот вид, имеющий самый малый размер генома, содержит довольно большое количество очень быстро реассоциирующих последовательностей и вместе с тем в 1,5—2 раза меньше, чем остальные виды уникальных последовательностей.

Для семи из восьми изученных нами видов сусликов (за исключением *C. citellus*) Е. А. Ляпуновой и В. П. Кораблевым проведено измерение относительного содержания С-окрашивающегося гетерохроматина [Lyapunova et al., 1980b]. Было показано, что доля гетерохроматина в кариотипе *Citellus* варьирует от 20,8% у *C. undulatus* до 31,4% у *C. fulvus*. Из рис. 21 видно, что доля С-окрашенных участков хромосом хорошо коррелирует ($r = 0,93$) с размером генома у шести видов сусликов (исключение составляет опять *C. dauricus*). При этом у *Citellus* наилучшим образом с содержанием гетерохроматина коррелирует общее количество повторов, даже включая значения для *C. dauricus* ($r = 0,96$). Вместе с тем и уникальные последовательности показывают положительную количественную корреляцию с гетерохроматином, хотя и менее впечатляющую по сравнению с повторами (без *C. dauricus* $r = 0,63$). Из повторяющихся последовательностей линейную количественную связь с гетерохроматином образуют только быстрая и очень быстрая фракции, тогда как промежуточная с гетерохроматином не коррелирует. Интересно отметить, что *C. dauricus*, сильно отличающийся от других видов пониженным содержанием в геноме уникальных последовательностей, в то же время характеризуется хорошим количественным соответствием между повторяющейся ДНК и гетерохроматином хромосом. Следовательно, отклонение точки, принадлежащей *C. dauricus*, от линии регрессии между размером генома и долей гетерохроматина (рис. 21) обусловлено пониженным содержанием уникальных последовательностей.

Исследование данной модельной системы показало, что структура генома близких видов одного рода в количественном отношении различается, оставаясь качественно однообразной. Различается и кинетическая сложность (размер) геномов. Найденные вариации коррелируют с вариациями в тонкой структуре хромосом, а именно в содержании С-окрашивающегося гетерохроматина. Таким образом, следует признать, что решающим фактором, влияющим на характеристики структуры генома, является не количество хромосом, а их внутренняя структура, выявляемая при С-окрашивании.

4. Грызуны: хомяки Палеарктики как группа видов с резкими различиями и в количестве хромосом и в количестве С-гетерохроматина (подсемейство Cricetinae)

Группа видов хомяков, относящихся к нескольким родам подсемейства Cricetinae, представляла интерес для нас в нескольких аспектах. Во-первых, на этой группе мы могли проверить, насколько выводы, сделанные в результате исследования геномов близкородственных животных на внутривидовом уровне (род *Citellus*), могут быть распространены на группы более высокого таксономического ранга (подсемейство Cricetinae). Во-вторых, в составе группы имеются виды как с отличиями по числу хромосом, так и с отличиями по тонкой структуре хромосом. Наконец, в-третьих, хомякообразные, так же как и беличьи, подверглись тщательному изучению Н. Н. Воронцовым, что нашло отражение в недавно вышедшей монографии [Воронцов, 1982] и в некоторых других работах. Следовательно, мы имеем вторую модельную систему для исследования вопроса о взаимоотношениях различных характеристик вида на молекулярном, надмолекулярном, организменном и более высоких уровнях.

Среди нескольких десятков родов современных хомяков лишь семь родов заселяют Палеарктику, тогда как более 50 родов живет в Новом Свете. Современные Cricetinae в фауне Старого Света представлены следующими родами: мышевидные хомячки *Calomyscus* (один вид), серые хомячки *Cricetulus* (семь видов), джунгарские хомячки *Phodopus* (два вида), крысовидные хомячки *Tscherskia* (один вид), эверсмановы хомячки *Allocricetulus* (два вида), средние хомячки *Mesocricetus* (четыре вида) и обыкновенные хомячки *Cricetus* (один вид).

Согласно данным кариологических исследований наименьшее число хромосом найдено у видов рода *Cricetulus* — *C. barabensis* ($2n=20$), *C. griseus* ($2n=22$), *C. migratorius* ($2n=22$) и рода *Cricetus* — *C. cricetus* ($2n=22$) [Воронцов, 1958, 1960]. В кариотипе *Tscherskia triton* 28—30 полностью акроцентрических хромосом [Makino, 1951; Воронцов, Раджабли, 1969], отдельные особи различаются по числу добавочных хромосом [Борисов и др., 1978; Картавцева и др., 1980]. Представители рода *Phodopus* также кариологически отличаются от группы *Cricetus* — *Cricetulus* (*P. sungorus*, $2n=28$ и *P. roborovskii*, $2n=34$). Все виды рода *Mesocricetus* имеют высокое число хромосом, вдвое большее, чем у *Cricetus* и *Cricetulus* (*M. auratus*, $2n=44$,

M. raddei, $2n = 42-44$, *M. brandti*, $2n = 42$ и *M. newtoni*, $2n = 38$) (Matthey, 1973). По рисунку G-полос хромосомы *Cricetus cricetus* поразительно похожи на хромосомы *C. griseus*, *C. migratorius* и *C. barabensis* [Раджабли, 1975; Gamperl et al., 1976, 1978], тогда как хромосомы представителей других родов такого сходства не обнаруживают. Лишь у *T. triton* отдельные сегменты хромосом обнаруживают сходство с хромосомами первой группы [Раджабли, 1975]. Исследования же С-окрашенных кариотипов выявляют фундаментальные различия в количестве и распределении гетерохроматина. *Cricetus cricetus* и *Meşocricetus auratus* обладают одинаково большим количеством гетерохроматина (около 34%), но если у первого вида в хромосомах обнаруживаются большие блоки прицентромерного гетерохроматина, то у второго вида гетерохроматин выявляется большей частью в плечах хромосом [Hsu, Arrighi, 1971; Vistorin et al., 1976; Gamperl et al., 1976, 1978]. У *Cricetulus griseus* гетерохроматические районы составляют 25% кариотипа, при этом прицентромерные районы многих хромосом вообще не окрашиваются при С-обработке [Arrighi et al., 1974; Gamperl et al., 1976, 1978]. Еще меньше гетерохроматина в хромосомах *Phodopus sungorus* (15%) [Gamperl et al., 1978] и *Cricetulus barabensis* [Борисов, Кораблев, 1978 и личн. сообщ.]. Очень много гетерохроматина (около 32%), расположенного в прицентромерных районах хромосом, обнаружено у *Tscherskia triton*, причем по интенсивности окраски эти районы делятся на две части — более плотно окрашивающиеся и слабее окрашивающиеся [Борисов, Кораблев, 1978; Kato, 1979].

Наконец, электрофоретический анализ белкового полиморфизма также показал близость *Cricetus cricetus* к *Cricetulus* и некоторую обособленность *T. triton*, *M. auratus* и *P. sungorus* [Фомичева, Воронцов, 1973; Картавцев и др., 1983].

Таким образом, у палеарктических хомяков хорошо изучены морфология [Громов, 1963; Воронцов, 1982], кариология и достаточно обоснованы родственные связи. Среди них имеются виды с одинаковыми числом и морфологией хромосом и виды с резко различающимися хромосомами. Хомяки характеризуются также большим разнообразием в количестве и распределении С-окрашенного гетерохроматина. Следовательно, палеарктические хомяки представляют собой очень интересный материал для молекулярно-генетических исследований.

Структура генома пяти видов хомяков (*C. barabensis*, $2n = 20$, *C. migratorius*, $2n = 22$, *Cricetus cricetus*, $2n = 22$,

T. triton, $2n = 28-30$ и *M. auratus*, $2n = 44$) была охарактеризована методом реассоциации коротких фрагментов ДНК со средней длиной 0,25—0,40 т. п. н. Кинетика реассоциации ДНК каждого вида получена в одной серии опытов в абсолютно идентичных условиях, используя при одном и том же значении C_0t четыре-пять параллельных проб препаратов ДНК от каждого вида. Кривые кинетики реассоциации опубликованы ранее [Ginatulina et al., 1980; Гинатулина, 1982], уточненные параметры структуры генома приведены в табл. 16.

У хомяков, так же как и у сусликов, выявляются четыре кинетические фракции ДНК: очень быстро реассоциирующая, умеренно быстро реассоциирующая, промежуточная и медленно реассоциирующая. Относительное содержание очень быстрой фракции в геноме хомяков, за исключением *T. triton*, мало — 3—6%. В геноме *T. triton* доля этой фракции достигает 13% ($2n = 28$) и 16% ($2n = 30$). В состав этой фракции могут входить высокоповторяющиеся и мгновенно реассоциирующие обращенные повторы. Детальное исследование кинетики реассоциации ДНК *T. triton* и *S. barabensis* в области очень низких значений C_0t показало, что очень быстрая фракция этих видов состоит главным образом из обращенных повторов (Гинатулина, 1982). Доля умеренно быстрой фракции наименьшая у *S. barabensis* (9,6%) и практически не отличается у остальных видов, составляя 11—13%. Частота повторяемости этой фракции варьирует у разных видов от 20 до 80 тыс. Содержание промежуточной фракции варьирует в больших пределах. У трех видов — *S. migratorius*, *M. auratus* и *Cricetus cricetus* — этой фракцией занята почти четверть генома (22—24%), у *S. barabensis* — несколько меньше (18%) и у *T. triton* — еще меньшая часть генома (13—16%). Последовательности этой фракции повторены 125—310 раз в геноме. Самая большая фракция ДНК — медленно реассоциирующая. Эта фракция включает в основном уникальные последовательности. Относительное содержание медленной фракции в геноме *S. barabensis* составляет 70%, а в геномах других видов — 57—62%.

В данном эксперименте не использовалась как стандарт ДНК *E. coli*, поскольку среди исследуемых видов хомяков имелся вид с известным размером генома. По цитофотометрическим данным Бахманна (Bachmann, 1972), величина гаплоидного генома *M. auratus* равна 4,8 пг ($4,4 \cdot 10^9$ п. н.).

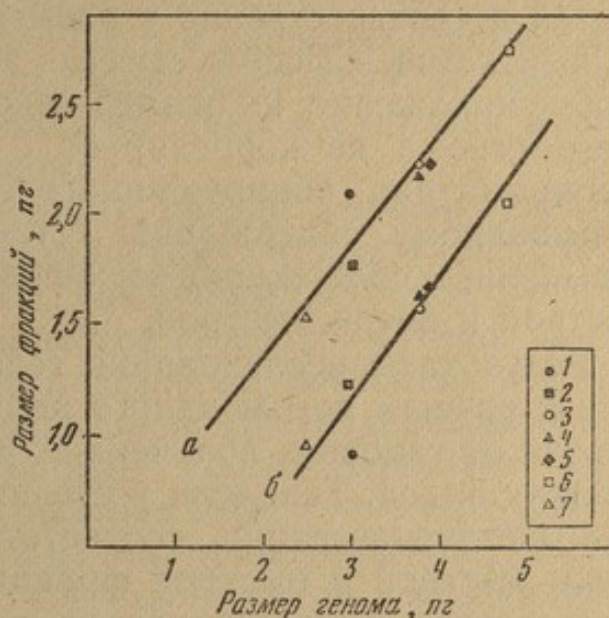
Расчеты показали, что размер генома *Cricetus* почти в 2 раза меньше такового *M. auratus* (1С) (2,5 и 4,8 пг соот-

ветственно). У двух видов *Cricetulus* обнаружено одинаковое значение величины генома, равное 3 пг. У *T. triton* величина генома на 30% больше, чем у *Cricetulus*, но меньше, чем у *M. auratus*, — 3,8—3,9 пг. Таким образом, по данным кинетики реассоциации ДНК, представители разных родов различаются по количеству ДНК в геноме в 1,2—1,9 раза.

Для того чтобы определить, за счет каких последовательностей различаются размеры геномов у хомяков, на рис. 22

Рис. 22. Корреляция между размером генома и количеством ДНК в составе повторов (а) и уникальных последовательностей (б) у хомяков подсемейства *Cricetinae*

1 — *C. barabensis*; 2 — *C. migratorius*; 3 — *T. triton* ($2n=28$, препарат ДНК № 53); 4 — *T. triton* ($2n=30$, препарат ДНК № 99); 5 — *T. triton* ($2n=30$, препарат ДНК № 106), 6 — *M. auratus*; 7 — *Cricetus cricetus*



количество ДНК в геноме каждого вида отложено против количества ДНК в составе повторов и в составе уникальной фракции. Как видно из рисунка, между сравниваемыми величинами имеется линейная зависимость. Следовательно, как количество повторов, так и количество уникальных последовательностей пропорционально увеличиваются с увеличением размера генома. Если рассчитать содержание ДНК в отдельных фракциях, то окажется, что эта величина также увеличивается с увеличением размера генома у всех видов, за исключением *T. triton*. У последнего имеется аномально высокое для рассматриваемых видов содержание очень быстро реассоциирующих последовательностей и в то же время низкое содержание промежуточных повторов, сравнимое с таковым у видов с малой величиной генома — *C. barabensis* и *Cricetus*.

Интересно провести сопоставление кинетических характеристик ДНК хомяков с числом хромосом и содержанием гетерохроматина в хромосомах. Низкохромосомные хомяки (оба *Cricetulus* и *Cricetus*) имеют в целом меньший геном, меньшее содержание (сложность) повторов и уникальных после-

довательностей, чем высокохромосомные. Сложность же отдельных фракций повторов не зависит от числа хромосом. Выше уже приводились данные по количеству гетерохроматина в хромосомах четырех из анализируемых видов, за исключением *C. migratorius*. Сравнивая эти данные с данными по структуре генома, можно видеть, что для трех видов (*M. auratus*, *T. triton* и *C. barabensis*) относительное содержание гетерохроматина коррелирует с количеством ДНК в составе тотальных повторов и уникальных последовательностей и соответственно с размером всего генома. Обыкновенный хомяк *Cricetus cricetus* занимает в этом отношении особое положение: ни размер какой-либо фракции, ни размер всего генома не коррелирует с большим количеством гетерохроматина, обнаруженного у этого вида. У *M. auratus* повышенному содержанию гетерохроматина соответствует повышенное содержание всех фракций, а у *T. triton* — только быстрой и очень быстрой.

Результаты исследования генома хомяков, принадлежащих к разным родам одного подсемейства, несколько отличаются от таковых, полученных для более филогенетически близких видов. Так, если у сусликов повышенному содержанию гетерохроматина соответствовала повышенная доля очень быстрой и быстрой фракции, то у хомяков подобное соответствие обнаруживается лишь для *T. triton*. Далее, у *M. auratus* и *Cricetus* при одинаково высоком содержании С-гетерохроматина (по 34%), а также при очень сходном соотношении в геномах повторяющихся фракций последовательностей в 2 раза различаются размеры геномов, и, как следствие, абсолютные размеры каждого повторяющегося компонента. В отличие от сусликов у хомяков число хромосом довольно хорошо коррелирует с размером генома: низкохромосомные виды имеют меньший размер (2,5—3 пг: *C. barabensis* с $2n=20$, *C. migratorius* и *Cricetus*, оба с $2n=22$), промежуточное число хромосом и промежуточное же значение размера генома имеет *T. triton* (3,8—3,9 пг и $2n=28-30$), а высокохромосомный вид *M. auratus* обладает и наибольшим размером генома (4,8 пг и $2n=44$). Однако трактовка такой корреляции не бесспорна, поскольку эти виды филогенетически достаточно отдалены друг от друга и не исключена возможность того, что обнаружено лишь случайное совпадение и что в эволюции хомяков дивергенция по числу хромосом шла независимо от дивергенции по размеру генома.

5. Морские млекопитающие (китообразные и ластоногие) как группы с низкой скоростью кариотипической эволюции

Результаты исследования ДНК приматов и грызунов показали, что структура генома видов этих отрядов весьма изменчива. Полиморфизм по относительному содержанию разных фракций ДНК выявлен как на межродовом (хомяки), так и на внутриродовом (суслики, некоторые хомяки) уровне. Обнаружены заметные различия и в размерах геномов грызунов. Далее мы увидим, что еще более крупные различия у представителей этого отряда найдены в способах молекулярной организации их геномов.

В чем кроется причина таких, иногда довольно сильных, различий в геномных характеристиках у грызунов? Можно было бы объяснить это только различиями в тонкой структуре хромосом, например в количестве гетерохроматина. Однако такое объяснение не всегда приемлемо, поскольку эти явления могут быть взаимозависимыми и обусловленными одними и теми же причинами (причиной). Весьма вероятной причиной изменчивости генома грызунов может являться высокая скорость эволюции отряда в целом, приводящая и к широкой морфологической, и к кариологической изменчивости. В пользу такого объяснения, в частности, говорят результаты исследования генома приматов (см. выше), которые также характеризуются высокой скоростью морфо- и кариотипической эволюции [Wilson et al., 1975] и демонстрируют широкую изменчивость по молекулярной структуре генома (см. табл. 16).

По мнению многих авторов [Wilson et al., 1975; Bush et al., 1977; Bengtsson, 1980; Воронцов, 1980], темпы видообразования во многих отрядах млекопитающих находятся в прямой зависимости от темпов изменения числа хромосом и числа хромосомных плеч. По данным Вильсона и соавторов [Wilson et al., 1975], наименьшая для млекопитающих скорость эволюции отмечена у китообразных и сумчатых (она близка к нулю), несколько большая — у насекомоядных, рукокрылых, хищных и очень большая — у грызунов, приматов и копытных. Сравнительно низкая скорость эволюции характерна и для отряда ластоногих [Arnason, 1974; Анбиндер, 1980]. Если допустить, что причиной наблюдаемой широкой изменчивости молекулярных характеристик генома грызунов и приматов является высокая скорость эволюции этих отрядов, то совершенно естественно возникает вопрос: а не сопровождается ли стабилизация кариотипа и процесс замедления эволюции морфотипа в группах с низкой ско-

ростью эволюции стабилизацией и молекулярных свойств генома?

В литературе отсутствуют сведения о структуре генома видов, принадлежащих к таксонам с низкой скоростью эволюции. Поэтому представлялось интересным сравнить кинетику реассоциации ДНК представителей китообразных и ластоногих, т. е. достаточно больших таксономических групп, характеризующихся низкой скоростью эволюции и морфотипа и кариотипа.

Морфотип китообразных сформировался на первых этапах их дивергенции и в последующем изменялся очень медленно. По крайней мере уже в олигоцене, где-то 35—40 млн. лет назад, уже существовали представители некоторых семейств зубатых китов, а 20 млн. лет назад — некоторых входящих в них родов, что относится к необычайному для млекопитающих феномену низкой скорости эволюции [Яблоков и др., 1972]. Китообразные в целом характеризуются и поразительной стабильностью, и единообразием кариотипа ($2n = 44$ и лишь у немногих видов $2n = 42$) [Arnason, 1974a, 1974; Анбиндер, 1974, 1980; Arnason et al., 1977]. Вместе с тем следует отметить, что усатые киты (в основном из рода полосатиков *Balaenoptera*) имеют 25—30% С-окрашивающихся участков в хромосомах, а зубатые киты — 10—15% [Arnason, 1974a; Arnason et al., 1977]. С-гетерохроматин китообразных локализован преимущественно интерстициально и значительно меньше в центромерных районах хромосом и совпадает по расположению с позднореплицирующимися участками хромосом.

Ластоногие также характеризуются высокой стабильностью и выраженным единообразием кариотипов, что указывает, по мнению Арнасона [Arnason, 1974b, 1977], на то, что у этих млекопитающих кариотип также сформировался рано и очень быстро на первых этапах их истории, в период вторжения предковой группы в новую среду обитания и первичной адаптации к водным условиям. Однако ластоногие в отличие от китообразных сохранили прочную связь с сушей, специализация к водным условиям в целом у них выражена слабее (в разной, правда, степени у разных групп отряда). В отряде встречаются три хромосомных варианта: $2n = 36$, $2n = 34$ и $2n = 32$. По мнению Анбиндера [1980], современные семейства ластоногих произошли от 36-хромосомного предка около 20 млн. лет назад. Таким образом, за 20 млн. лет число хромосом у ластоногих уменьшилось лишь от $2n = 36$ до $2n = 32$. За значительно меньший (10—15 млн. лет) срок число хромосом у высших

приматов достигло значительно большего разнообразия: от $2n=72$ у некоторых мартышек *Scorpius* до $2n=20$ у прыгуна *Callicebus torquatus*. У сусликов же вариация $2n$ от 46 до 32 возникла немногим более чем за 5 млн. лет [Воронцов, Ляпунова, 1972].

Если стабилизация морфо- и кариотипа сопровождается стабилизацией структуры генома, мы вправе ожидать совпадения кинетических характеристик ДНК у китообразных, с одной стороны, и у ластоногих — с другой.

Мы исследовали кинетику реассоциации ДНК у представителей двух подотрядов китообразных: кашалота *Physeter catodon* ($2n=42$, подотряд зубатых китов) и полосатика Брайда *Balaenoptera edeni* ($2n=44$, подотряд усатых китов), а также у трех представителей ластоногих из двух семейств: ларги *Phoca largha* ($2n=32$, семейство настоящих тюленей), сивуча *Eumetopias jubatus* ($2n=36$) и северного морского котика *Callorhinus ursinus* ($2n=36$, оба из семейства ушастых тюленей).

Кривые кинетики реассоциации фрагментов ДНК китов средней длиной 300 пар нуклеотидов были получены в совершенно идентичных условиях эксперимента (и одновременно с ДНК ластоногих). У обоих видов выявлены четыре кинетические фракции (компоненты), различающиеся по скорости реассоциации: очень быстро реассоциирующая, или очень быстрая ($C_0t < 10^{-3}$), быстро реассоциирующая, или быстрая ($C_0t \ 10^{-3} - 3 \cdot 10^{-1}$), промежуточная ($C_0t \ 3 \cdot 10^{-1} - 3 \cdot 10^2$) и медленно реассоциирующая, или медленная (уникальная) ($C_0t > 10^2$). Параметры этих фракций приведены в табл. 16. Профили кривых кинетики реассоциации ДНК полосатика и кашалота оказались очень сходными между собой. Повторяющиеся кинетические компоненты ДНК этих видов полностью совпадают по скорости реассоциации и лишь немного (на 2—3%) отличаются по содержанию в геноме, причем общее содержание повторяющихся последовательностей в ДНК и полосатика и кашалота одинаково и составляет около 32%. Из них 10% представлены очень быстро реассоциирующими последовательностями (повторяющимися миллионы раз и / или инвертированными повторами), 7—10% — последовательностями, имеющими в геноме около 80 тыс. копий, и 12—15% — менее повторенными последовательностями (800 копий). Остальные 68% ДНК изученных китообразных состоят из неповторяющихся уникальных последовательностей.

В параллельных экспериментах была получена кинетическая кривая ДНК *E. coli*, и мы смогли рассчитать размер ге-

нома китообразных согласно существующей зависимости между размером генома и $C_0t_{1/2}$ уникальной фракции [Britten, Kohne, 1968]. Значение $C_0t_{1/2}$ реассоциировавших фрагментов *E. coli* в условиях данного эксперимента составило 3,5, значение $C_0t_{1/2}$ уникальной фракции ДНК китообразных — в 714 раз больше (2500). Отсюда находим, что размер гаплоидного генома полосатика и кашалота составляет 3,3 пг.

Краткий итог проведенного исследования кинетики реассоциации ДНК двух видов китообразных следующий: а) представители двух подотрядов китообразных — зубатых и усатых китов обнаруживают практически полное единообразие в молекулярной структуре генома; это хорошо согласуется с наблюдаемыми у китообразных единообразием и стабильностью структуры кариотипа и с очень низкой скоростью эволюции видов [Arnason, 1974a; Arnason et al., 1977]; б) хотя для усатых китов-полосатиков было показано значительное обогащение их кариотипа по сравнению с кариотипом зубатых китов С-гетерохроматиновым материалом [Arnason, 1974a; Arnason et al., 1977], нам не удалось выявить какие-либо существенные различия в содержании различных групп нуклеотидных последовательностей в геномах полосатика Брайда и кашалота.

На кривых кинетики реассоциации фрагментов ДНК длиной около 300 пар нуклеотидов у ластоногих выявлены компоненты, аналогичные таковым китообразных и большинства других млекопитающих. Это очень быстрая ($C_0t < 10^{-3}$), быстрая ($C_0t \cdot 10^{-3} - 3 \cdot 10^{-1}$), промежуточная ($C_0t \cdot 3 \cdot 10^{-1} - 3 \cdot 10^1$) и медленная (уникальная) ($C_0t > 10^2$) фракции. Но, как оказалось, между собой кинетические кривые у изученных ластоногих менее сходны, чем у китообразных. При этом варьируют практически все характеристики молекулярной структуры генома: доля отдельных фракций повторов, доля всех повторов, степень повторяемости в геноме отдельных групп последовательностей и даже размер генома. По относительному содержанию в геноме как суммарных повторов (31—36%), так и отдельных их фракций изученные представители ушастых тюленей более или менее сходны между собой и резко отличаются от представителя настоящих тюленей — ларги. Ларга выделяется пониженной общей долей повторяющихся последовательностей ДНК (21%), а также долей каждой из фракций. Фракция очень быстро реассоциирующих последовательностей варьирует в ДНК ластоногих от 5% (ларга) до 10% (сивуч). Сходный размах варьирования показывают и две

другие повторяющиеся фракции: быстрая — от 6% (ларга) до 11% (сивуч); промежуточная — от 10% (ларга) до 16% (котик). Различаются у трех изученных ластоногих и значения $C_0t_{1/2}$ уникальной фракции, что демонстрирует различие размеров их геномов. Проведенные расчеты дали следующие значения гаплоидного содержания ДНК в клетках *Pinnipedia*: котик — 3,3, сивуч — 4,2, ларга — 2,9 пг.

Как видим, наименьший по величине геном у ларги, для которой было отмечено пониженное относительное содержание в ДНК повторов. Количество повторяющихся последовательностей у этого вида меньше и по абсолютной величине. В то же время абсолютное содержание уникальных последовательностей (2,29 пг) у ларги крайне близко к значению, найденному у котика (2,26 пг), а также у двух изученных китообразных (2,23 пг). У сивуча найдена наибольшая среди ластоногих (да и среди всех пяти изученных нами морских млекопитающих) величина как всего генома, так и отдельных его фракций. В прямом соответствии с вариациями размера генома у ларги, сивуча и котика варьируют частоты повторяемости последовательностей быстрой и промежуточной фракций их ДНК.

Итак, в результате проведенного исследования кинетики реассоциации ДНК трех видов ластоногих было установлено следующее. Во-первых, представители двух основных семейств ластоногих — настоящих и ушастых тюленей характеризуются наряду с чертами сходства молекулярной структуры генома (наличием в ДНК аналогичных кинетических компонентов) существенными различиями по относительному и абсолютному содержанию всех повторяющихся последовательностей, по содержанию отдельных фракций, по величине генома. Однако по молекулярной структуре генома представители семейства ушастых тюленей — котик и сивуч обнаруживают все же больше сходств между собой, чем с представителем настоящих тюленей — ларгой. Во-вторых, выявленная изменчивость молекулярной структуры и размера генома не согласуется с наблюдаемым у представителей этого отряда относительным единообразием структуры кариотипа. Возможно, что эта вариабельность отражает изменчивость тонкой структуры хромосом, которая, как следует из сравнительного анализа дифференциально окрашенных хромосом [Arnason, 1974b, 1977], является у ластоногих менее стабильной характеристикой кариотипа, чем общая его структура.

Исследование структуры и размера генома видов из двух отрядов морских млекопитающих, характеризующихся очень низкой скоростью кариотипической эволюции, не дало единого для этих групп ответа на поставленный вопрос о том, сопровождается ли процесс стабилизации кариотипа и замедления эволюции морфотипа стабилизацией и молекулярной структуры генома.

Молекулярные характеристики генома представителей разных подотрядов китов практически совпадают: различия между двумя повторяющимися фракциями не превышают ошибки эксперимента (около 3%), а общее содержание повторов, уникальных последовательностей, а также размеры геномов одинаковы. Те же характеристики у представителей двух монотипических родов одного семейства ушастых тюленей различаются гораздо сильнее — на уровне обнаруженных нами ранее различий генома у представителей разных родов грызунов подсемейства *Cricetinae* и разных видов рода *Citellus*. Геном же ларги сильно отличается от генома ушастых тюленей по очень малому относительному и абсолютному содержанию всех фракций повторов и по этому показателю не имеет пока себе равных среди всех изученных млекопитающих (около 50 видов, см. табл. 16).

6. Общий обзор по структуре генома млекопитающих

Мы рассмотрели структуру генома представителей нескольких модельных систем видов и на основе данных попытались сделать некоторые выводы и выявить связи между структурой и размером генома, а также между этими характеристиками и гетерохроматином. Рассмотрим теперь кратко структуру генома всех изученных видов млекопитающих и проверим, в какой степени выводы, сделанные на основе исследования модельных систем, верны для других видов класса млекопитающих. Табл. 16 представляет собой сводку всех известных нам данных по изученным видам млекопитающих (более 50 видов), где указана частота повторяемости выявленных фракций ДНК и их относительное содержание (доля) в геноме. В тех случаях, когда авторы не приводят в своих работах всех характеристик генома, мы вычисляли их, исходя из графических данных, приведенных в этих работах.

При исследовании кинетики реассоциации ДНК млекопитающих различными авторами выявлялось от трех до пяти фракций, различающихся по скорости реассоциации и частоте повторяемости образующих их последовательностей в геноме. В наших работах было обнаружено четыре кинетические фракции ДНК у всех видов млекопитающих, относящихся к пяти различным отрядам. Это фракция медленно реассоциирующих уникальных последовательностей и три фракции повторов: фракция с чрезвычайно высокой скоростью реассоциации, которая может включать высокоповторяющиеся (более 10^6 копий в геноме) и палиндромные последовательности с неопределенной частотой повторяемости; фракция с умеренно быстрой скоростью реассоциации, содержащая последовательности, повторенные десятки тысяч раз; фракция с промежуточной скоростью реассоциации, последовательности которой повторены в геноме сотни раз. Аналогичные четыре фракции были выявлены в геномах млекопитающих и многими другими авторами (см. табл. 16).

Наглядное представление о характере распределения по частоте повторяемости последовательностей ДНК в геномах млекопитающих дает рис. 23, где повторяемость последова-

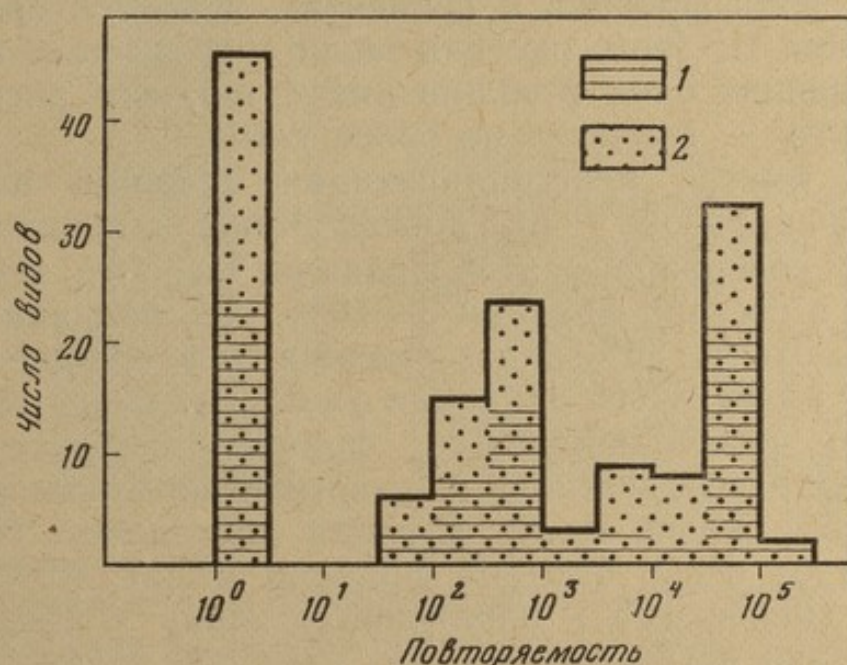


Рис. 23. Гистограмма частот повторяемости последовательностей ДНК 50 видов и подвидов млекопитающих

1 — данные, полученные в нашей лаборатории; 2 — данные, полученные другими авторами

тельностью из различных фракций ДНК отложена против числа видов, в геномах которых выявлены эти фракции. Штриховкой на рисунке выделен вклад наших исследований. Видно, что полученные нами данные очень хорошо согласуются с данными других авторов.

Рис. 23 показывает, что последовательности ДНК в геномах млекопитающих характеризуются не непрерывным спектром частот повторяемости, постулированным в ранних работах [Britten, Kohne, 1968 и др.], а имеют дискретный набор частот. Хотя у отдельных видов он может несколько отличаться, для подавляющего большинства видов (85% изученных видов) млекопитающих характерен следующий набор частот: 1; 10^2 — 10^3 ; 10^4 — 10^5 . Лишь у очень незначительного числа видов отмечены промежуточные частоты повторяемости последовательностей ДНК: 10^1 — 10^2 ; 10^3 — 10^4 ; более 10^5 . Среднестатистические значения частот повторяемости для трех фракций ДНК млекопитающих составляют согласно расчетам 1, 400 и 50 тыс. У всех видов млекопитающих имеется также очень быстро реассоциирующая фракция с неохарактеризованной частотой повторяемости.

Относительное содержание фракций в геноме

Рис. 24 характеризует геном млекопитающих по доле каждой из кинетических фракций ДНК. По оси абсцисс отложена доля фракций в процентах, а по оси ординат — число видов. Из этого рисунка видно, что по доле в геноме млекопитающих одни фракции имеют широкое распределение, а другие — значительно более узкое.

Очень быстро реассоциирующая фракция варьирует в широком диапазоне — от 3 до 25%. Чаше встречаются виды с меньшим содержанием этой фракции. Так, 50% всех видов содержат в составе фракции 3—10%, т. е. вариация в пределах 7%. Другие 50% видов содержат в ее составе от 10 до 25%, т. е. имеет место вариация уже в пределах 15%.

Быстро реассоциирующая фракция характеризуется очень узким распределением по относительному содержанию. Так, у 75% видов доля фракции составляет 10—15%; в отличие от очень быстрой фракции малая доля данной фракции (менее 10%) наблюдается лишь у 15% видов. Крайне редко встречаются виды, имеющие в составе этой фракции 15—25%. Лишь один вид имеет очень большую величину этой фракции (38%) — бык *Bos taurus* [Davidson, Britten, 1973]. Создается впечатление, что естественный отбор довольно жестко контролирует относительное содержание быстрой фракции — в пределах 10—15% генома.

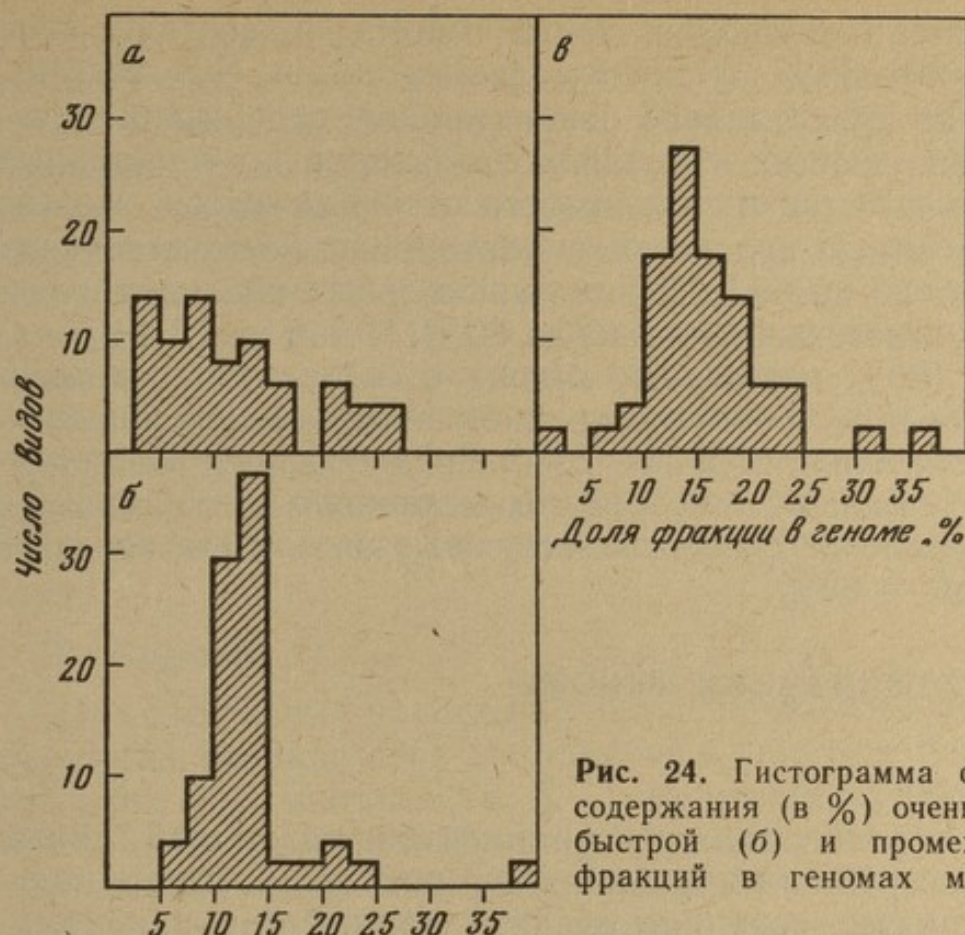


Рис. 24. Гистограмма относительного содержания (в %) очень быстрой (а), быстрой (б) и промежуточной (в) фракций в геномах млекопитающих

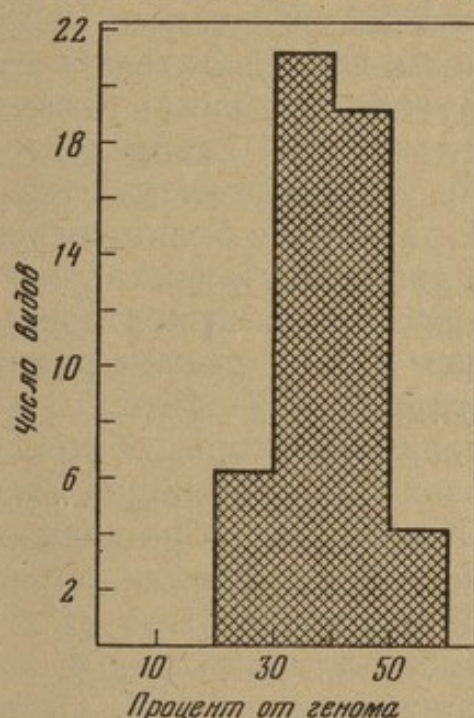


Рис. 25. Гистограмма относительного содержания суммарной фракции повторов в геномах млекопитающих

Поскольку еще не выяснена функциональная значимость последовательностей со средней повторяемостью 50 тыс., то в настоящее время трудно объяснить эволюционный консерватизм относительного содержания этих последовательностей в геноме млекопитающих.

Распределение по относительному содержанию промежуточной фракции исследованных млекопитающих более широкое, чем в случае быстрой фракции. Так, у 75% видов доля в геноме промежуточной фракции составляет уже не 10—15%, а 10—20%, т. е. диапазон колебаний в данном случае в 2 раза шире. Встречаются вместе с тем виды, не имеющие этой фракции (*Bos taurus*) или же, наоборот,

имеющие очень большую долю генома в составе этой фракции — 30—35% (*Sciurus carolinensis* и *Sus scrofa*).

На рис. 25 представлено относительное содержание в геноме млекопитающих суммарных повторов и уникальных последовательностей в зависимости от числа видов. Можно видеть, что общее содержание повторов у млекопитающих варьирует от 20 до 60%, а доля уникальных последовательностей — соответственно от 40 до 80%. Чаще всего встречаются виды (80% изученных видов) с общим содержанием повторов 30—50% и соответственно с содержанием уникальных последовательностей 50—70%. Среднее значение относительного содержания повторов, вычисленного для 52 видов и подвидов, равно 38%, соответственно уникальных последовательностей — 62%.

§ 2. Организация генома

1. Человек

Исследуя реассоциацию фрагментов различной длины ДНК человека, Шмид и Дэйнинджер показали, что уникальные последовательности со средней длиной 2 т. п. н. регулярно чередуются с повторами длиной 0,3—0,4 т. п. н. Чередующиеся с таким коротким периодом последовательности занимают 52% всего генома. Другая половина генома занята более длинными последовательностями неопределенной длины [Schmid, Deininger, 1975]. Обращенные повторы очень сильно рассеяны по геному. Их размеры в большинстве случаев равны размерам коротких повторов и составляют около 0,3 т. п. н. Расстояние между обращенными повторами варьирует от 0,1 до 20 т. п. н., в среднем это расстояние равно 4,6 т. п. н. Количество их не превышает 5% [Deininger, Schmid, 1976]. Показано, что обращенные повторы, обычные повторы и уникальные последовательности в большой степени перемежаются друг с другом. Количество обращенных повторов согласно расчетам Дейнинджера и Шмида равно $1,2 \cdot 10^5$, согласно расчетам Дотта и соавторов [Dott et al., 1976] — в десять раз больше. Приблизительно такое же распределение последовательностей найдено в ДНК, выделенной из лейкоэмических (раковых) клеток человека [Torelli et al., 1979].

Исключительный интерес при отсутствии, конечно, какого-либо артефакта представляет сравнительный анализ распределения последовательностей во фрагментах длиной 2 т. п. н. ДНК из лейкоцитов и ДНК из сперматозоидов [Hernandez et al., 1978]. Профили кинетики реассоциации коротких и

длинных фрагментов ДНК из лейкоцитов указывают на организацию генома человека, сходную с таковой по результатам Шмида и Дейнинджера [Schmid, Deininger, 1975]. Профили кривых такой же длины фрагментов ДНК из сперматозоидов резко отличаются и указывают на то, что в ДНК из сперматозоидов с уникальными последовательностями с коротким периодом перемежаются только промежуточные повторы ($C_0t\ 10^{-1}—10^2$), а обращенные и умеренно быстрые повторы организованы в виде кластеров.

В целом же организация генома человека, как по мнению самих авторов исследований, так и на наш взгляд, очень напоминает организацию генома уже рассмотренных выше рыб и амфибий (т. е. «Хепорус-тип» в чистом, «классическом» виде).

2. Хомяки

Для выяснения распределения последовательностей ДНК в геномах хомяков мы в дополнение к кинетике реассоциации коротких фрагментов (см. § 1) получили кривые кинетики реассоциации длинных фрагментов ДНК четырех видов с регистрацией хода реакции реассоциации с помощью хроматографии на гидроксипатите. Были использованы фрагменты со средним размером 2,9 и 18 т. п. н. для ДНК *S. barabensis*; 4,5 т. п. н. — *T. triton*; 4,0 и 10 т. п. н. — *M. auratus*; 1,5 и 11 т. п. н. — *S. cricetus*. Кривые кинетики реассоциации этих фрагментов ДНК *S. barabensis* приведены на рис. 26. Почему для иллюстрации был выбран именно этот вид, мы объясним позже.

На кинетических кривых можно выявить те же компоненты ДНК, какие были выявлены для коротких фрагментов, — это очень быстро реассоциирующая фракция ($C_0t < 10^{-3}$), быстро реассоциирующая фракция ($C_0t\ 10^{-3}—8 \cdot 10^{-1}$), промежуточная ($C_0t\ 10^0—3 \cdot 10^1$) и медленно реассоциирующая фракция ($C_0t > 3 \cdot 10^1$). Соответствие найденных параметров экспериментальным точкам проверяли по методу наименьших квадратов. Ошибка при этом не превышала 3,5%.

Для всех видов хомяков характерно то, что при увеличении длины фрагментов ДНК фракция уникальных последовательностей у них убывает, но в разной степени у разных видов. Если для одних видов при переходе от фрагментов 0,3—0,4 т. п. н. к фрагментам 1,5—4,5 т. п. н. уменьшение доли этой фракции очень незначительно (для *T. triton* всего 1,6%), то для других видов оно достаточно ощутимо (12% для *M. auratus*) и даже велико (17% для *S. cricetus* и 21% для *S. barabensis*). Эти данные свидетельствуют о том, что

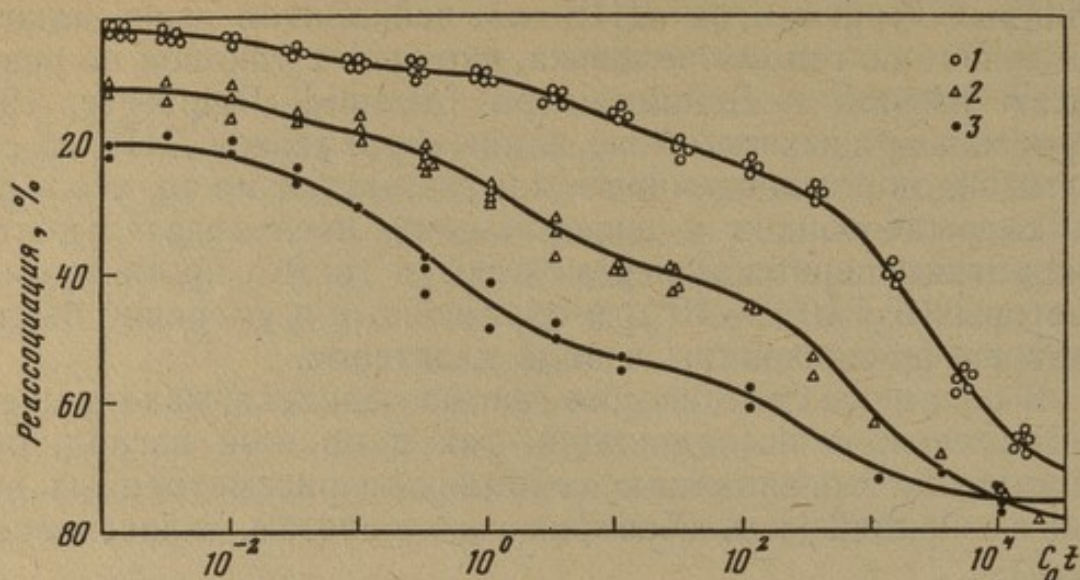


Рис. 26. Кинетика реассоциации фрагментов ДНК длиной 0,3 (1), 2,9 (2) и 18 т. п. н. (3) даурского хомячка *Cricetulus barabensis*

у хомяков в геноме имеется короткий период чередования уникальных и повторяющихся последовательностей «ксенопусного» типа, но представлен этот тип чередования у разных видов разной долей генома: наиболее выражен он у *C. barabensis* и *C. cricetus*, крайне мало таких чередующихся последовательностей у *T. triton*, а *M. auratus* в этом отношении занимает промежуточное положение. Дальнейшее увеличение длины фрагментов от 10 до 20 т. п. н. не вызывает изменения доли уникальной фракции у *M. auratus*, но приводит к уменьшению доли этой фракции у *Cricetus* на 11%, а у *C. barabensis* на 19%. Отсюда следует, что у некоторых хомяков имеется наряду с коротким периодом и умеренно длинный период чередования повторяющихся и уникальных последовательностей, сравнимый с максимальной длиной используемых фрагментов и характерный для генома, устроенного по «дрозофильному» типу. Среди хомяков он наиболее выражен у *C. barabensis* и *Cricetus*. У *M. auratus* большая часть уникальных последовательностей, по-видимому, имеет длину, значительно превышающую размер используемых фрагментов, т. е. уникальные последовательности этого вида (по крайней мере значительной своей частью) вовлечены в сверхдлинный, порядка нескольких десятков тысяч пар нуклеотидов, период чередования, т. е. в период чередования, характерный для «альбатросного» типа организации генома. У *T. triton* кинетика очень длинных фрагментов не снималась, однако из того, что при изменении длины фрагментов от 0,3 до 45 т. п. н. доля уникальной

фракции практически не изменялась, можно предположить, что у этого вида почти все уникальные последовательности очень протяженные, по крайней мере они значительно больше 4,5 т. п. н.

Как можно было убедиться, организация генома исследованных видов хомяков в целом неодинакова, но по отдельным показателям организации генома между видами можно обнаружить и элементы сходства. Так, короткие уникальные последовательности, перемежающиеся с повторами на участке 1,5—3 т. п. н., составляют у *C. barabensis* 21,2% генома, или 30,3% всех уникальных последовательностей ($21,2 \cdot 100/69,9$, табл. 17), у *Cricetus* — соответственно 17,0 и 27,6%, у *M. auratus* — 12,3 и 21,5%, в то время как у *T. triton* — 1,6 и 2,8%. Если учесть, что размер средних фрагментов у *Cricetus cricetus* вдвое меньше, чем у других видов (1,5 против 3—4 т. п. н. у других видов), то можно предположить, что коротких уникальных последовательностей у этого вида несколько больше. При средней длине фрагментов у *C. barabensis* и *Cricetus* с ГАП связывается более 50% реассоциировавшей ДНК, следовательно, более 50% фрагментов длиной 2—4 т. п. н. содержат повторяющиеся и прилегающие к ним уникальные последовательности. Аналогичная ситуация ранее была обнаружена в геномах симы, амфибий и некоторых других организмов (в том числе в геноме человека), у которых был описан «Хепорус-тип» организации нуклеотидных последовательностей. Организацию генома даурского хомячка *C. barabensis* и обыкновенного хомяка *Cricetus*, по-видимому, следует также отнести к «Хепорус-типу». Различие между *C. barabensis* и *Cricetus* заключается в том, что у *C. barabensis* в чередование с короткими уникальными последовательностями вовлечены и очень быстрые и промежуточные повторы, а у *Cricetus* — только очень быстрые [Гинатулина, 1982]. Это, по-видимому, обусловлено тем, что у *Cricetus* обращенные повторы, реассоциирующие очень быстро, расположены более дисперсно среди последовательностей других фракций, а у *C. barabensis* — более компактно, в виде блока (кластера) из нескольких мономеров на одном длинном фрагменте ДНК. В отличие от этих видов у *M. auratus* меньшая часть, а у *T. triton* совсем ничтожная часть генома занята короткими уникальными последовательностями, соседствующими с повторами.

Из всех уникальных последовательностей генома умеренно длинные уникальные последовательности размером 3—20 т. п. н., т. е. сравнимые с размером таких участков ДНК у *Drosophila*, составляют 28% у *C. barabensis*, 18% у *Cricetus*

и лишь 0,2% у *M. auratus*. Как показывают данные, «дрозофильный» период интерсперсии также более выражен у первых двух видов и практически отсутствует у *M. auratus* и, по-видимому, у *T. triton*, хотя в целом, по нашему мнению, организация генома у *C. barabensis* и *Cricetus* все же больше соответствует «ксенопусному» типу. В геноме *C. barabensis* с умеренно длинными уникальными последовательностями, так же как и с короткими, соседствуют повторяющиеся последовательности из очень быстрой и промежуточной фракций, а у *Cricetus* — повторяющиеся последовательности только из очень быстрой фракции ДНК. Значительную часть генома изученных видов занимают очень протяженные уникальные последовательности: 29% (42% всей уникальной фракции) у *C. barabensis*, 34% (55% фракции) у *Cricetus*, 46% (80% фракции) у *M. auratus* и более 50% у *T. triton* (90% фракции). Значительное преобладание в геноме очень протяженных уникальных последовательностей и крайне малое содержание уникальных элементов, чередующихся с повторами по «ксенопусному» или «дрозофильному» способу, сближает организацию нуклеотидных последовательностей в геноме у *M. auratus* и *T. triton* с таковой, найденной у альбатроса.

Большое сходство между *C. barabensis* и *Cricetus* по молекулярной организации генома подтверждает выводы о сходстве этих видов, принадлежащих к разным родам, сделанные ранее на основании цитологических [Воронцов, 1958, 1960; Раджабли, 1975; Gamperl et al., 1976, 1978] и биохимических [Фомичева, Воронцов, 1973; Картавцев и др., 1983] исследований. Способы организации генома *M. auratus* и *T. triton* несколько отличаются друг от друга, но в значительно большей степени — от других видов.

Организация генома еще нескольких видов хомяков Палеарктики изучена другими авторами (табл. 17). По данным Маклахлана и соавторов [MacLachlan et al., 1979], доля коротких уникальных последовательностей в геноме китайского хомячка *Cricetulus griseus* составляет 22% генома (30% всей уникальной фракции), их средняя длина равна 1,2 т. п. н. Доля умеренно длинных уникальных последовательностей равна 38% генома (или 60% фракции), средний размер их 13 т. п. н., а средняя длина чередующихся с ними повторов 1,2 т. п. н. По данным же Лейпольдта и соавторов [Leipoldt et al., 1982], доля коротких уникальных последовательностей у этого вида составляет 60% генома, или 80% фракции. Из этих данных видно, что коротких последовательностей в геноме *C. griseus* довольно много.

Таблица 17. Организация генома млекопитающих

Вид	Общее содержание уникальных последовательностей, % генома	Доля коротких уникальных последовательностей, % фракции	Автор, год
Primates			
Hominidae			
<i>Homo sapiens</i> (человек разумный)	52	50	Schmid, Deininger, 1975
Rodentia			
Sciuridae			
<i>Citellus undulatus</i> (суслик длиннохвостый)	66	11	Ginatulin et al., 1983
<i>C. parryi</i> (суслик арктический)	62	7	То же
<i>C. pygmaeus</i> (суслик малый)	61	8	»
<i>C. fulvus</i> (суслик желтый)	59	11	»
<i>C. major</i> (суслик большой)	54	?	»
Muridae			
<i>Mus musculus</i> (мышь домовая)	74	30	Ginelli et al., 1977
<i>Rattus norvegicus</i> (крыса серая)	52	75	Pearson et al., 1978
Cricetidae			
<i>Mesocricetus auratus</i> (хомячок золотистый)	57	22	Наши данные
или сирийский)	60	—	Moyzis et al., 1981a
<i>Phodopus sungorus</i> (хомячок джунгарский)	64	47	Leipoldt et al., 1982
<i>Tscherskia triton</i> (хомячок крысвидный)	63	44	То же
<i>Cricetulus griseus</i> (хомячок китайский)	58	3	Наши данные
<i>C. barabensis</i> (хомячок даурский)	70	30	MacLachlan et al., 1979
<i>Cricetus cricetus</i> (хомяк обыкновенный)	78	80	Leipoldt et al., 1982
	70	30	Наши данные
	62	28	»
Arthiodactyla			
Suidae			
<i>Sus scrofa</i> (свинья)	50	20	Avvedimento et al., 1976
Bovidae			
<i>Bos taurus</i> (бык)	55	25	Britten, Smith, 1970; Mayfield et al., 1980

Организация его генома, согласно первой работе, весьма близка к таковой другого вида этого рода — *C. barabensis*. Согласно же второй работе, коротких последовательностей у него значительно больше, чем у *C. barabensis*. Сходным образом организован геном представителя другого рода хомяков — *Phodopus sungorus* [Leipoldt et al., 1982]. Доля коротких уникальных последовательностей в геноме *P. sungorus* составляет около 30% (ср. с *C. barabensis*, *C. griseus* и *Cricetus*), или 44% фракции.

Геном золотистого (сирийского) хомячка *M. auratus* изучался, кроме нашей лаборатории, еще в двух лабораториях. По данным Лейпольдта и соавторов [Leipoldt et al., 1982], в геноме этого вида коротких уникальных последовательностей в 2 раза больше, чем обнаружено нами. В то же время, по данным Мойзиса и соавторов [Moyzis et al., 1977, 1981a], у этого вида коротких уникальных последовательностей вообще нет. Промежуточный результат между этими крайними случаями, как видно из табл. 17, получен нами. Трудно сказать, чем обусловлены столь различные результаты, полученные разными исследователями для этого лабораторного вида, тем более что в работе Мойзиса и соавторов кинетические кривые сняты довольно детально.

Проведенные исследования организации генома хомяков показали, что по количеству, протяженности и взаимному расположению групп последовательностей имеется хорошее согласие с систематическим положением видов. Много общего по организации генома имеют *Cricetulus* — *C. barabensis* и *C. griseus*. Близок к ним по организации генома представитель другого рода — *Cricetus cricetus*, что вовсе не является неожиданным, так как их сходство было уже отмечено на основании кариологических и биохимических данных. Сходство способа организации генома *Phodopus* и группы *Cricetulus* — *Cricetus*, по-видимому, конвергентно.

Организация генома *M. auratus* и *T. triton* отличается по характеру и друг от друга, и от таковой других хомяков.

3. Суслики

Распределение различного типа последовательностей ДНК друг относительно друга изучено у пяти видов сусликов: *Citellus undulatus*, *C. pygmaeus*, *C. parryi*, *C. major* и *C. fulvus* [Гинатулин и др., 1980; Ginatulin et al., 1983]. Кинетики реассоциации коротких фрагментов ДНК этих и других видов сусликов подробно обсуждались в § 1 данной главы. Здесь рассмотрим характер изменений кинетических пара-

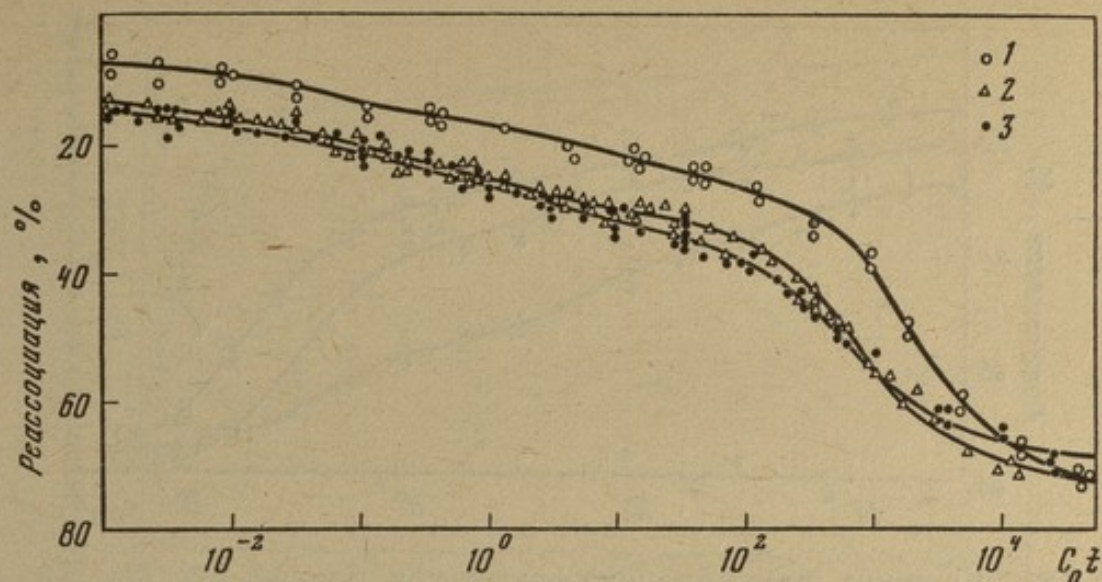


Рис. 27. Кинетика реассоциации фрагментов ДНК длиной 0,25 (1), 2,7 (2) и 10 т. п. н. (3) арктического суслика *Citellus parryi*

метров при использовании более длинных фрагментов ДНК — 2—3 т. п. н. (кроме *C. major*) и 10—15 т. п. н.

При использовании в эксперименте фрагментов длиной 2—3 т. п. н. доля материала, способного связываться с ГАП при C_0t 60, лишь незначительно (на 4—7%) увеличивается по сравнению с таковой при использовании коротких (0,25—0,3 т. п. н.) фрагментов ДНК. Это указывает на очень небольшую степень интерсперсии повторяющихся и уникальных последовательностей с коротким периодом. Уникальные последовательности, длина которых менее 2—3 т. п. н., составляют лишь 7—8% всего неповторяющегося компонента у *C. parryi* (рис. 27) и *C. pygmaeus* (около 4% генома) и 11% у *C. undulatus* и *C. fulvus* (рис. 28) (6—7% генома). Из трех фракций повторяющихся последовательностей лишь доля очень быстрой фракции увеличивается при этом на 6—10%, тогда как доля быстрой и промежуточной фракций или имеет то же значение, что и при длине фрагментов 0,3 т. п. н., или уменьшается на 1—5%. Лишь у *C. fulvus* доля промежуточной фракции слегка увеличивается (рис. 28). Эти данные свидетельствуют о том, что у большинства видов последовательности очень быстрой фракции чередуются с коротким периодом как с уникальными, так и частично с повторяющимися последовательностями, реассоциирующими медленнее.

Анализ результатов, полученных при использовании в эксперименте очень длинных фрагментов (10—15 т. п. н.), выявляет большие различия между видами, чем при исполь-

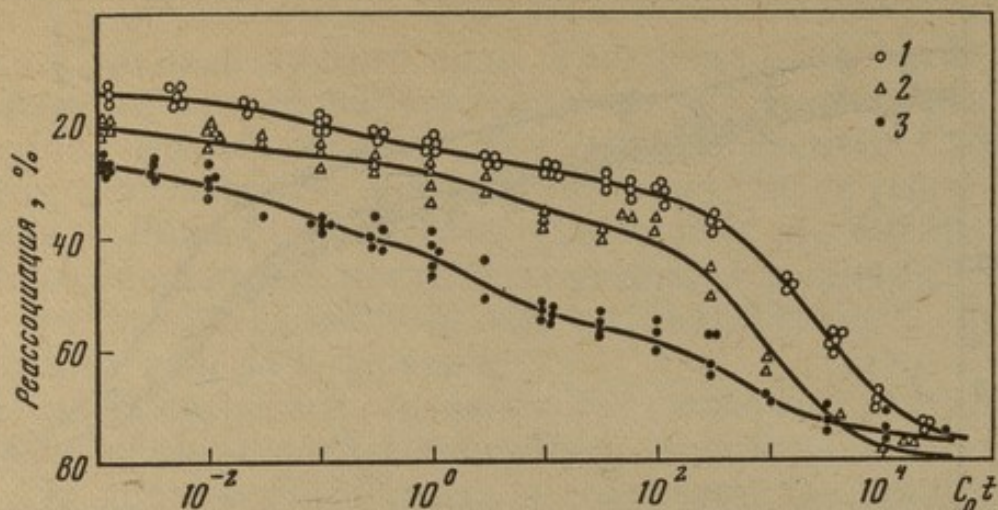


Рис. 28. Кинетика реассоциации фрагментов длиной 0,3 (1) 2,9 (2) и 12 т. п. н. (3) ДНК желтого суслика *Citellus fulvus*

зовании более коротких фрагментов. Доля фракции неповторяющихся последовательностей уменьшается, но в разной степени у разных видов (ср. рис. 27 и 28). Увеличение длины фрагментов в 4—6 раз (от 2—3 до 10—15 т. п. н.) вызывает очень незначительное уменьшение уникальной фракции (менее 1%) у *C. parryi*, немного больше (на 7%) у *C. undulatus* и значительное уменьшение (на 17—24%) у двух видов — *C. pygmaeus* и *C. fulvus*. Доля каждой из повторяющихся фракций почти не изменяется у *C. parryi*, увеличивается на 2—4% у *C. undulatus* и на 4—10% у *C. pygmaeus* и *C. fulvus*. По характеру изменения относительного содержания кинетических фракций при изменении длины фрагментов от 0,3 до 10 т. п. н. геном *C. major* более схож с геномами *C. pygmaeus* и *C. fulvus*, чем с геномами *C. parryi* и *C. undulatus*.

Для одного из этих видов — *C. undulatus* проводилось дополнительное определение длины чередующихся последовательностей очень быстрой фракции, отличающееся тем, что в эксперименте использовалось большое число разных фрагментов, как это было сделано для курицы (см. рис. 17). Из рис. 29 видно, что полученная кривая зависимости имеет двухфазный характер, с точкой перегиба, соответствующей длине фрагментов 1,5 т. п. н. Следовательно, основная часть последовательностей (10% генома), чередующихся с очень быстро реассоциирующими повторами, имеет длину 1,5 т. п. н. Средний размер очень быстрых повторов равен 0,7 т. п. н. — значение, получаемое при продолжении начальной прямой до пересечения с осью абсцисс. При длине фрагментов более 1,5 т. п. н. линия зави-

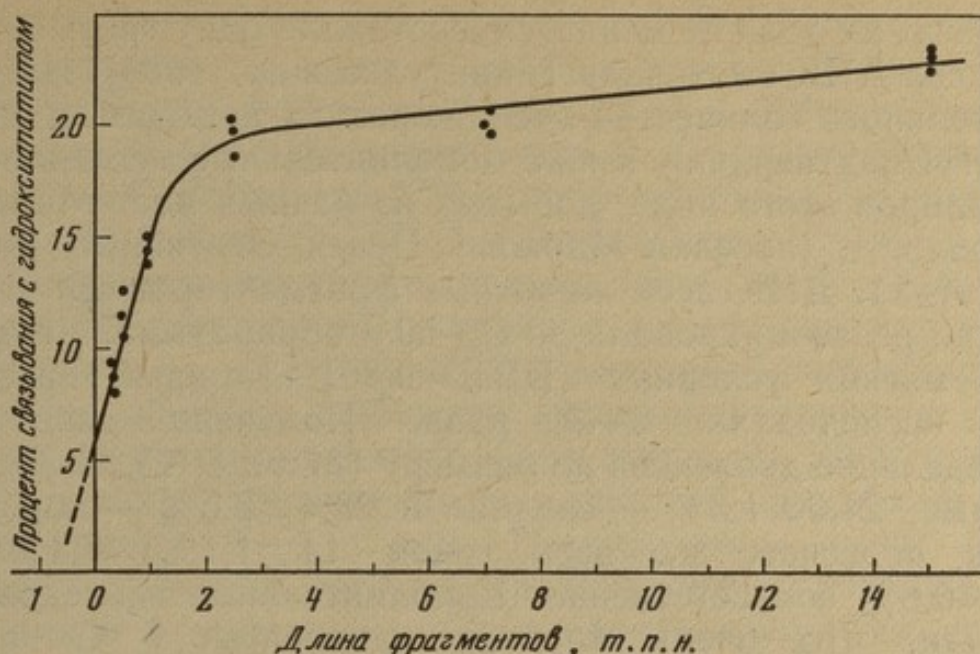


Рис. 29. Зависимость связывания с ГАП ДНК длиннохвостого суслика *Citellus undulatus* от длины фрагментов, реассоциировавших до $C_0t \cdot 10^{-3}$

симости имеет слабый наклон, не выходя на плато даже при длине фрагментов 15 т. п. н., т. е. другая часть последовательностей, примыкающих к очень быстрым повторам, превышает по размеру 15 т. п. н.

Эксперименты по определению длины повторов с помощью S_1 -нуклеазы дали следующие результаты [Ginatulin et al., 1983]. Общая доля устойчивых к действию нуклеазы дуплексов при C_0t 50 составляет 28—39% и практически не зависит от степени переваривания и исходной длины фрагментов. Следовательно, почти все достаточно протяженные одонитевые хвосты эффективно отделяются от спаренных участков уже в мягких условиях гидролиза реассоциатов нуклеазой. У сусликов выявляются длинные (более 1,2 т. п. н.) и средние (0,15—1,2 т. п. н.) дуплексы, характерные почти для всех изученных эукариот, и, кроме того, очень короткие дуплексы (0,07—0,15 т. п. н.), образующие у некоторых видов отдельный хроматографический пик. Последние отсутствуют на профиле гель-фильтрации дуплексов ДНК некоторых грызунов, например крысвидного хомячка [Гинатулин, 1981], но имеются у кайры и полоза (см. главы 4,5), а также у некоторых других рептилий и птиц [Erplen et al., 1979]. Количество очень коротких дуплексов у сусликов варьирует от 1% (в ДНК *C. undulatus*) до 10% (в ДНК *C. parryi*). Увеличение степени переваривания от $DIG. = 0,70$ до $DIG. = 0,95$ приводит к увеличению доли очень коротких дуплексов: у *C. undulatus* — от 1 до 3%; у *C. major* — от 2,2 до 3%; в то же время

у *S. raugui* их доля не меняется, составляя одну треть от всех дуплексов ДНК этого вида [Гинатулин и др., 1980]. Наличие значительного количества очень коротких повторов в геноме *S. raugui* подтвердили также дополнительные исследования экземпляров этого вида, добытых из разных мест Магаданской области (поселки Марково, Певек, Эгвекинот, Атка и Лаврентия). ДНК всех животных фрагментировали до 3—4 т. п. н., реассоциировали до C_0t 50 и обрабатывали нуклеазой в мягких условиях ($DIG. = 0,70$). Каждый препарат ДНК исследовали 2—3 раза. Получено следующее распределение дуплексов по размеру ($M \pm m$): $45,1 \pm 3,4\%$ — длинные; $24,0 \pm 1,3\%$ — средние и $28,4 \pm 2,6\%$ — короткие, или в пересчете на весь геном $14 \pm 1,1\%$; $7,4 \pm 0,4\%$ и $8,8 \pm 0,8\%$ соответственно. Дополнительные исследования показали, что очень короткие дуплексы у *S. raugui* являются обращенными повторами. Средние по размеру дуплексы составляют в геномах сусликов 8—13%. У одних видов эти дуплексы имеют максимум в районе элюции маркеров длиной 0,3 т. п. н., а у других видов наблюдается широкое распределение без выраженного максимума. На долю дуплексов, элюирующихся в исключенном объеме колонки, у большинства видов приходится значительная часть от всего нуклеазоустойчивого материала — 60—70% (16—28% генома), лишь у *S. raugui* их несколько меньше — 40% (12—15% генома).

Данные по реассоциации ДНК и гель-фильтрации S_1 -устойчивых дуплексов указывают на то, что в ДНК рассматриваемых грызунов имеются последовательности разной протяженности, которые могут чередоваться друг с другом коротким или длинным периодом или совсем не чередоваться на довольно большом отрезке ДНК. Анализ данных показывает, что короткие уникальные последовательности составляют приблизительно одинаковую и очень малую часть генома сусликов, причем перемежающиеся с ними короткие повторы в основном представлены очень быстро реассоциирующими последовательностями. Средняя длина этих повторов (или блока повторов) у *S. undulatus* равна 0,7 т. п. н., а чередующихся с ними уникальных последовательностей — 1,5 т. п. н. (см. рис. 29). Возможно, что подобным же образом организованы перемежающиеся с коротким периодом повторы и уникальные последовательности в геномах остальных сусликов. Общее количество таких последовательностей у сусликов не превышает 15—20%. Остальные 80—85% генома представлены более протяженными последовательностями.

Кроме того, в геномах некоторых видов имеются уникальные последовательности, чередующиеся с повторами с умеренно длинным периодом, более 3 т. п. н. Количество таких последовательностей наименьшее у *C. parryi* (менее 1%, рис. 27) и *C. undulatus* (7%), промежуточное у *C. pygmaeus* и *C. major* (около 15—17%) и наибольшее у *C. fulvus* (24%). Протяженность этих последовательностей сопоставима с максимальной длиной использованных фрагментов или немного превышает ее. Протяженность повторов, чередующихся с умеренно длинным периодом, экспериментально не определялась. Некоторые расчеты [Ginatulin et al., 1983] показали, что средняя протяженность длинных дуплексов у *C. major* равна 3—4 т. п. н. По-видимому, очень близкое к этому значение средней протяженности длинных, чередующихся с уникальными последовательностями повторов имеют и два других вида — *C. pygmaeus* и *C. fulvus*.

Интересно сопоставить полученные данные с филогенией сусликов. Правда, нужно оговорить, что число изученных видов весьма незначительно, и следует констатировать, что организация генома классических представителей подрода *Citellus* s. str. (*C. citellus*, *C. xanthopygmnus*, *C. dauricus*) остается пока не изученной. Серологический анализ [Воронцов и др., 1980] показал, что анализируемые здесь виды относятся к двум разным большим группам — длиннохвостым и короткохвостым сусликам. В пределах последних иммунологически *C. fulvus* образует особую группу «fulvus», а *C. major* и *C. pygmaeus* относятся к другой серологической группе — «pygmaeus». Примечательно, что по количеству умеренно длинных уникальных последовательностей (15 т. п. н. или чуть более) имеется такая же градация: длиннохвостые суслики содержат малое (1—7%), *C. pygmaeus* и *C. major* — среднее (15—17%) и *C. fulvus* — большое (24%) количество этих последовательностей.

Таким образом, различия в способах организации генома сусликов очень хорошо коррелируют с систематическим положением видов. Попытаемся определить, к какому из уже известных типов организации генома близки обнаруженные варианты геномного устройства у сусликов. В чередование с коротким периодом уникальных и повторяющихся последовательностей вовлечено менее 20% генома. Следовательно, ни один из изученных видов не имеет генома, устроенного по «Хепорус-типу». Повторяющиеся и уникальные последовательности, чередующиеся с умеренно длинным периодом, составляют у *C. major* и *C. pygmaeus* не более 25%, а у *C. fulvus* приблизительно 35—40%. Остальная часть последова-

тельностью ДНК у сусликов — сверхдлинные, т. е. их протяженность превышает несколько десятков т. п. н. Такие последовательности преобладают в геномах *C. undulatus* и *C. parryi*. Сравнивая эти величины с данными по организации генома других эукариот, нужно отметить сходство организации генома *C. fulvus* с таковой дрозофилы и курицы, а организации генома *C. parryi* и *C. undulatus* с таковой морской черепахи, альбатроса и др. Численные данные свидетельствуют о том, что *C. pygmaeus* и *C. major* занимают промежуточное положение между этими крайними формами, но ближе к *C. fulvus*.

Мы не можем здесь говорить о том, какой способ организации был исходным для рода *Citellus*. Отличия в организации генома между *Urocitellus* и короткохвостыми *C. fulvus*, *C. major* и *C. pygmaeus*, характеризующимися более «дрозофильным» способом организации генома, могли возникнуть позже среднего плиоцена, около 3,5 млн. лет назад, когда произошла дивергенция на *Urocitellus* и *Citellus* s. str. Различия между *C. undulatus* и *C. parryi* (главным образом в организации повторов) возникли примерно за 600 тыс. — 1 млн. лет или поколений (для сусликов частота смены поколений около одного года, хотя перекрытие поколений существует). Крупные короткохвостые суслики дивергировали в середине плейстоцена, т. е. некоторые обнаруженные различия между *C. fulvus*, *C. major* и *C. pygmaeus*, вероятно, возникли за период 0,25—0,4 млн. поколений (лет).

4. Разнообразие способов организации генома млекопитающих

Для иллюстрации результатов по организации генома млекопитающих были приведены рис. 26—28, показывающие изменения кривых кинетики реассоциации с изменением длины фрагментов ДНК даурского хомячка, арктического и желтого сусликов. Эти виды были выбраны не случайно. Они демонстрируют все три «классических» варианта организации генома эукариот, найденные в одном отряде грызунов: «ксенопусный» (рис. 26), «дрозофильный» (рис. 28) и «альбатросный» (рис. 27).

К настоящему времени изучена молекулярная организация генома 16 видов млекопитающих. Основные результаты исследований представлены в табл. 17. Таблица составлена по тому же принципу, что и аналогичные таблицы для других классов позвоночных. Как уже отмечалось, основной характеристикой генома, на основе которой

проводилось определение типа организации генома, являлась доля уникальных последовательностей, чередующихся с коротким периодом с повторами [Davidson et al., 1975]. Мы видим, что менее чем у половины видов доля таких последовательностей составляет 50% и более. Следовательно, геномы человека, мыши, крысы, обыкновенного хомяка и джунгарского, китайского и даурского хомячков устроены по «Хепорус-типу». У всех сусликов и крысовидного хомячка такими последовательностями представлено менее 20%. Промежуточное положение занимают золотистый хомячок и оба вида парнокопытных — 30—40% коротких последовательностей. Остальная часть генома всех видов характеризуется умеренно длинными («дрозофильными» — 3—20 т. п. н.) и сверхдлинными («альбатросными» — десятки тысяч пар нуклеотидов) периодами чередования повторяющихся и уникальных последовательностей. «Дрозофильный» тип организации генома характерен для *Citellus pygmaeus*, *C. major*, *C. fulvus* (см. выше). «Альбатросный» же тип преобладает в геномах двух сусликов — *C. undulatus* и *C. parryi*, а также у свиньи *S. scrofa* и у хомячков *T. triton* и *M. auratus* (у последнего — согласно нашим данным и данным Мойзиса и соавторов [Moyzis et al., 1981a]). Таким образом, в целом следует отметить, что *среди млекопитающих нет универсальности в способе организации генома*. Наоборот, наблюдается поразительное разнообразие, когда наряду с «классическими» типами организации генома можно найти различные промежуточные формы. *Различия обнаруживаются не только у представителей разных отрядов, но и внутри одного отряда, семейства (хомяки) и даже рода (суслики) грызунов*. Пока никакой другой из изученных классов позвоночных не демонстрирует такого многообразия вариантов организации генома.

§ 3. Размер генома

Первую большую сводку по содержанию ДНК в клетках млекопитающих сделал Конрад Бахманн 10 лет назад [Bachmann, 1972]. Он привел результаты определения 2С у 43 видов млекопитающих из обоих подклассов. С тех пор число исследованных видов накапливалось, и к концу 1982 г. мы располагали сведениями более чем для 200 видов млекопитающих.

Полный список (из известных нам определений) размеров геномов млекопитающих приведен в табл. 18. Наглядное

Таблица 18. Размер генома млекопитающих

Вид	пт/2С	Автор, год
Monotremata		
Tachyglossidae		
Tachyglossus aculeatus	7,4	Bick, Jackson, 1967
Ornithorhynchidae		
Ornithorhynchus anatinus	7,9	Те же
Marsupialia		
Dasyuridae		
Dasyurus maculatus	7,5	Martin, Hayman, 1967
Sminthopsis crassicaudata	7,5	Те же
Sarcophilus harrisi	7,4	»
Peramelidae		
Isoodon macrourus	9,7	»
I. obesulus	9,6	»
Perameles nasuta	9,2	Martin, Hayman, 1967; Rendel, Kellerman, 1955
Thylacomys lagotis	8,9	Martin, Hayman, 1967
Phalangeridae		
Cercartetus concinnus	7,5	Те же
C. nanus	7,5	»
Phascolarctus cinereus	8,0	»
Trichosurus vulpecula	(6,0)	Rendel, Kellerman, 1955
Phascolomigidae		
Lasiorhinus latifrons	8,8	Martin, Hayman, 1967
Phascolomys mitchelli	8,6	Martin, Hayman, 1967
Macropodidae		
Macropus major	8,5	Те же
M. rufus	(6,3)	Rendel, Kellerman, 1955
Potorous tridactylus	(6,4)	Bick, Jackson, 1967
Insectivora		
Erinaceidae		
Erinaceus algirus	7,9	Willey, Yunis, 1975
Chiroptera		
Molossidae		
Tadarida brasiliensis	6,1	Bachmann, 1972
Eumops perotis	5,4	Manfredi Romanini et al., 1975
Pteropidae		
Pteropus giganteus	4,6	Те же
Rhinolophidae		
Rhinolophus ferrumequinum	4,1	»
R. euryale	3,9	»
R. hipposideros	4,0	»
Vespertilionidae		
Lasiurus floridanus	7,4	Bachmann, 1972
Miniopterus schreibersi	3,7	Manfredi Romanini et al., 1975
Myotis austroriparius	6,8	Bachmann, 1972
M. mystacinus	4,0	Manfredi Romanini et al., 1975

Таблица 18 (продолжение)

Вид	пр/2С	Автор, год
<i>M. myotis</i>	4,5	Manfredi Romanini et al., 1975
<i>M. capaccini</i>	4,0	Те же
<i>Pipistrellus savii</i>	4,2	»
<i>P. kuhli</i>	4,8	»
<i>Eptesicus fuscus</i>	4,7	»
<i>Barbastella barbastellus</i>	4,6	»
Primates		
Tupaiaidae		
<i>Tupaia glis</i>	7,0	Pellicciari et al., 1982
Lorisidae		
<i>Nycticebus coucang</i>	7,5	Те же
<i>Perodicticus potto potto</i>	6,9	»
<i>P. potto edwarsi</i>	6,9	»
<i>Galago senegalensis</i>	8,7	»
<i>G. crassicaudatus crassicaudatus</i>	8,3	»
<i>G. crassicaudatus argentatus</i>	6,8	»
<i>G. alleni</i>	8,2	»
Lemuridae		
<i>Microcebus murinus</i>	6,5	»
<i>Hapalemur griseus griseus</i>	6,9	»
<i>H. griseus alaotrensis</i>	6,6	»
<i>H. griseus occidentalis</i>	6,8	»
<i>H. griseus olivaceus</i>	6,6	»
<i>H. simus</i>	6,8	»
<i>Lemur catta</i>	7,2	Manfredi Romanini, 1972
	6,4	Pellicciari et al., 1982
<i>L. fulvus</i>	7,6	Manfredi Romanini, 1972
<i>L. macaco</i>	7,5	»
<i>L. macaco fulvus</i>	6,5	Pellicciari et al., 1982
<i>L. macaco rufus</i>	6,5	Те же
<i>L. mongoz</i>	7,1	Manfredi Romanini, 1972
<i>L. mongoz coronatus</i>	7,7	Pellicciari et al., 1982
<i>L. mongoz mongoz</i>	6,5	Те же
<i>Lepilemur mustelinus</i>	6,8	Pellicciari et al., 1982
Tarsiidae		
<i>Tarsius syrichta</i>	11,2	Manfredi Romanini, 1972
	10,9	Pellicciari et al., 1982
Callithricidae		
<i>Callithrix jacchus</i>	7,2	Те же
Cebidae		
<i>Cebuella pygmaea</i>	7,3	»
<i>Callicebus cupreus</i>	4,8	»
<i>C. torquatus</i>	4,7	»
<i>Allouatta caraja</i>	7,8	»
	8,0	Manfredi Romanini, 1972
<i>A. villosa</i>	7,6	Pellicciari et al., 1982
<i>A. palliata</i>	7,6	Manfredi Romanini, 1972

Таблица 18 (продолжение)

Вид	пг/2С ₁	Автор, год
<i>Saimiri sciurens</i>	6,9	Pellicciari et al., 1982
<i>Cebus apella</i>	7,7	Те же
<i>C. capucinus</i>	7,9	Manfredi Romanini, 1972
	8,1	Pellicciari et al., 1982
<i>C. albifrons</i>	8,3	Те же
<i>C. nigrivittatus</i>	7,1	»
<i>Ateles belzebuth</i>	7,6	»
<i>A. geoffroyi</i>	6,8	»
<i>A. paniscus</i>	7,2	»
<i>Lagothrix lagothricha</i>	7,4	»
Cercopithecidae		
<i>Macaca arctoides</i>	7,2	»
<i>M. fascicularis</i>	7,4	»
<i>M. fuscata</i>	7,4	»
<i>M. maura</i>	7,2	Pellicciari et al., 1982
<i>M. mullatta</i>	6,5	Manfredi Romanini, 1972
	7,6	Pellicciari et al., 1982
<i>M. nemestrina</i>	7,4	Те же
<i>M. nigra</i>	7,2	»
<i>M. silenus</i>	7,6	»
	6,6	Manfredi Romanini, 1972
<i>M. sylvana</i>	7,2	Pellicciari et al., 1982
<i>Papio hamadryas</i>	7,4	Те же
<i>P. sphynx</i>	7,3	»
<i>Cercocebus galeritus</i>	7,3	»
	9,9	Manfredi Romanini, 1972
<i>C. atys</i>	7,8	Pellicciari et al., 1982
<i>C. aerrimus</i>	7,8	Те же
<i>C. torquatus</i>	10,2	Manfredi Romanini, 1972
<i>Cercopithecus aethiops</i>	6,1	»
	9,4	Formenti, 1975
<i>C. aethiops aethiops</i>	9,4	Pellicciari et al., 1982
<i>C. aethiops griseoviridis</i>	9,5	Те же
<i>C. aethiops tantalus</i>	8,2	Formenti, 1975
<i>C. griseoviridis</i>	9,5	»
<i>C. sabaeus</i>	8,4	Pellicciari et al., 1982
<i>C. cynosurus</i>	8,7	Те же
<i>C. cephus</i>	10,9	»
	10,9	Formenti, 1975
	7,4	Manfredi Romanini, 1972
<i>C. neglectus</i>	10,1	Pellicciari et al., 1982
<i>C. nictitans</i>	9,2	Те же
<i>C. nigroviridis</i>	10,8	Pellicciari et al., 1982
<i>C. talapoin</i>	7,7	Те же
<i>C. pygerythrus</i>	8,7	Formenti, 1975
<i>C. (Erythrocebus) patas</i>	7,3	Manfredi Romanini, 1972
<i>Nasalis larvatus</i>	9,0	»
<i>Colobus polykomos</i>	7,5	Pellicciari et al., 1982
<i>C. satanas</i>	7,5	Manfredi Romanini, 1972

Таблица 18 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Pongidae		
Pongo pygmaeus	8,6	Pellicciari et al., 1982
Pan troglodites	8,0	Те же
Gorilla gorilla	7,4	Manfredi Romanini, 1972
	7,5	Pellicciari et al., 1982
Symphalangus syndactylus	6,2	Те же
Hylobates agilis	5,8	»
H. lar	6,1	Manfredi Romanini, 1972
Hominidae		
Homo sapiens	7,3	Bachmann, 1972
	7,0	Aktin et al., 1965
Lagomorpha		
Leporidae		
Oryctolagus cuniculus	5,9	Те же
	6,6	Shapiro, 1976
Rodentia		
Sciuridae		
Sciurus carolinensis	10,8	Bachmann, 1972
Ictidomys spilosoma	6,6	Mascarello, Mazrimas, 1977
Ammospermophilus harrisi	11,4	Те же
Citellus undulatus	5,6	Гинатулина, 1982
C. parryi	7,0	»
C. relictus	7,0	»
C. dauricus	5,4	»
C. pygmaeus	7,8	»
C. citellus	6,2	»
C. major	7,4	»
C. fulvus	7,8	»
Geomyidae		
Thomomys bottae bottae	10,6	Sherwood, Patton, 1982
T. bottae ingens	10,5	Те же
T. bottae laticeps	10,1	»
T. bottae leucodon	10,0	»
T. bottae mewa	10,4	»
T. bottae minor	10,4	»
T. bottae sylvifugus	11,2	»
T. bottae planorum	10,7	»
T. bottae ruidosae	9,3	»
T. bottae fulvus	9,2	»
T. bottae grahamensis	9,7	»
T. bottae alienus	9,5	»
T. bottae morulus	8,8	»
T. bottae aetuosus	8,4	»
T. bottae internatus	8,6	»
T. umbrinus intermedius	9,4	»
T. townsendii relictus	10,4	»
T. townsendii similis	10,8	»
T. townsendii townsendii	11,1	»
T. monticola	4,7	»
T. talpoides fossor	5,5	»

Таблица 18 (продолжение)

Вид	пг/2С	Автор, год
Heteromyidae		
<i>Dipodomys spectabilis spectabilis</i>	9,8	Hatch et al., 1976
<i>D. spectabilis baileyi</i>	9,6	Те же
<i>D. heermanni tularensis</i>	6,9	»
<i>D. heermanni californicus</i>	8,5	»
<i>D. merriami</i>	8,1	»
<i>D. deserti</i>	8,8	»
<i>D. agilis</i>	9,5	»
<i>D. microps</i>	8,0	»
<i>D. ordii monoensis</i>	10,9	»
<i>D. ordii compactus</i>	9,7	»
Cricetidae		
<i>Meriones unguiculatus</i>	7,6	Bachmann, 1972
<i>Neotoma floridana</i>	8,0	Те же
<i>Sigmodon hispidus</i>	8,2	»
<i>Microtus oregoni</i>	7,0	»
<i>M. agrestis</i>	7,0	Deaven et al., 1977
<i>Ellobius talpinus</i>	7,7	Ляпунова и др., 1979
	8,0	Наши данные
<i>E. lutescens</i>	7,8	Ляпунова и др., 1979
	7,4	Наши данные
<i>E. fuscicapillus</i>	9,5	Ляпунова и др., 1979
<i>Peromyscus floridanus</i>	7,4	Bachmann, 1972
<i>P. crinitus</i>	8,6	Deaven et al., 1977
<i>P. maniculatus</i>	8,9	Те же
<i>P. maniculatus</i>	10,8	»
<i>Mesocricetus auratus</i>	9,6	Bachmann, 1972
<i>Tscherskia triton</i>	7,7	Гинатулина, 1982
<i>Cricetus cricetus</i>	5,0	»
<i>Cricetulus barabensis</i>	6,0	»
<i>C. migratorius</i>	6,0	»
<i>C. griseus</i>	8,3	Bachmann, 1972
Muridae		
<i>Rattus norvegicus</i>	8,0	»
	5,7	Rees, Jones, 1972
<i>Mus musculus</i>	8,4	Bachmann, 1972
	6,0	Laird, 1971
	5,0	Rees, Jones, 1972
	7,5	Mascarello, Mazrimas, 1977
Caviidae		
<i>Cavia porcellus</i>	9,2	Bachmann, 1972
Chinchillidae		
<i>Chinchilla laniger</i>	8,3	»
Cetacea		
Balaenopteridae		
<i>Balaenoptera edeni</i>	6,6	Наши данные

Таблица 18 (окончание)

Вид	пг/2С	Автор, год
Physeteridae		
Physeter catodon	6,6	Наши данные
Pinnipedia		
Otariidae		
Callorhinus ursinus	6,6	То же
Eumetopias jubatus	8,4	»
Phocidae		
Phoca largha	5,8	»
Carnivora		
Canidae		
Canis familiaris	6,0	Vendrely, 1955
	7,2	Bachmann, 1972
	7,7	Atkin et al., 1965
	6,1	Shapiro, 1976
Felidae		
Felis catus	7,1	»
Mustelidae		
Mustela lutreola	6,0	Графодатский и др., 1977
M. sibirica	6,2	Те же
M. eversmanni	7,6	»
M. putorius	7,8	»
M. erminea	7,8	»
M. vison	8,2	»
M. nivalis	8,6	»
M. altaica	8,8	»
Tubulidentata		
Orycteropodidae		
Orycteropus afer	12,2	Benirschke et al., 1970
Perissodactyla		
Equidae		
Equus caballus	5,8	Vendrely, 1955
	7,2	Atkin et al., 1965
Artiodactyla		
Suidae		
Sus scrofa	5,8	»
	5,6	Shapiro, 1976
Bovidae		
Bos taurus	6,8	Vendrely, 1955
	7,2	Bachmann, 1972
Bubalus bubalus	9,8	»
Ovis aries	6,3	Vendrely, 1955
Cervidae		
Muntiacus muntjak	5,3	Wurster, Atkin, 1972
M. reevesi	6,5	Те же

представление о распределении значений $2C$ у млекопитающих дает приведенная здесь гистограмма (рис. 30). Размеры геномов млекопитающих колеблются от 3,7 пг у одного из рукокрылых до 12,2 пг у трубкозуба *Orycteropus afer*, единственного представителя одноименного отряда. Однако основные значения колеблются в более узких пределах: 80% видов имеют $2C=6-10$ пг, а 70% видов — $2C=6-9$ пг. Среднее значение для 202 видов 7,8 пг. Минимальный геном среди млекопитающих имеют рукокрылые, а среди них — летучие мыши семейства *Vespertilionidae* [Manfredi Romanini, 1973; Manfredi Romanini et al., 1975].

Интересно было бы попытаться выяснить, за счет каких последовательностей ДНК может варьировать размер генома млекопитающих. Исследование кинетики реассоциации коротких фрагментов ДНК летучей мыши *Myotis* и ежа *Echinaceus amurensis*, имеющих двукратные различия в размерах геномов, показало, что утрата ДНК рукокрылыми шла в эволюции пропорционально по всем типам последовательностей — и по повторяющимся и по уникальным [Гинатулина, 1982; Гинатулин, Гинатулина, 1979a; Ginatulina et al., 1980]. Точно так же пропорциональными изменениями вклада всех компонентов генома сопровожда-

ются и двукратные различия в размерах генома *Cricetus cricetus* и *Mesocricetus auratus* и (правда, не столь большие) различия их у большинства сусликов рода *Citellus*. У некоторых же видов при изменениях величины генома по сравнению с геномами ближайших родственников обнаружено избирательное изменение количества обращенных повторов (крысовидный хомячок *Tscherskia triton* [Гинатулина, 1982]), промежуточных повторов (индийский мунтжак *Muntiacus munt-*

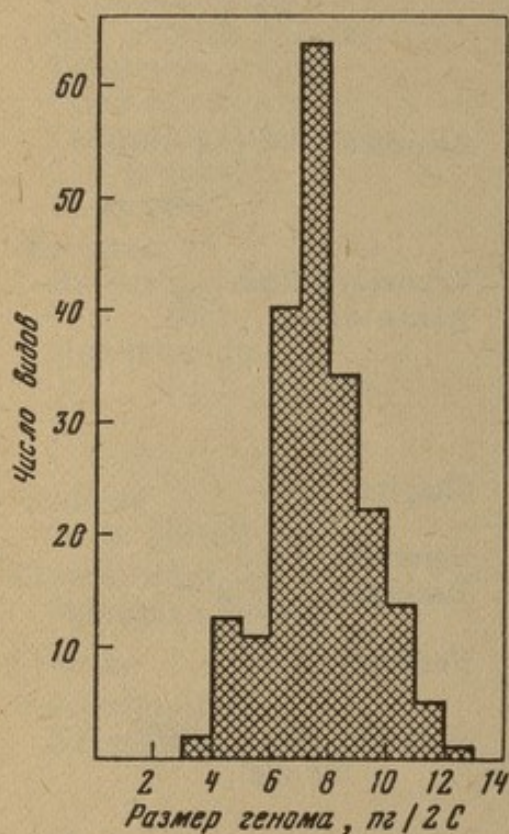


Рис. 30. Гистограмма размеров генома у млекопитающих (пг/2C)

У 70% видов величина генома колеблется от 6 до 9 пг, среднее значение для 202 видов — 7,8 пг

tjak [Schmidtke et al., 1981]) или уникальных последовательностей (даурский суслик *Citellus dauricus* [Гинатулина, 1982]).

Какова же главная стратегия изменения размера генома млекопитающих в целом (по крайней мере той части, о которой уже что-то можно сказать сейчас)? Чтобы наши рассуждения не были голословными и не висели в воздухе, я позволю себе привести некоторый иллюстративный и, как кажется, весьма показательный материал.

На рис. 31 показано взаимоотношение между размером генома и относительным содержанием каждой фракции в процентах генома согласно данным табл. 16 и 18. Видно, что какая-либо корреляция между этими параметрами у млекопитающих отсутствует, по крайней мере это верно в отноше-

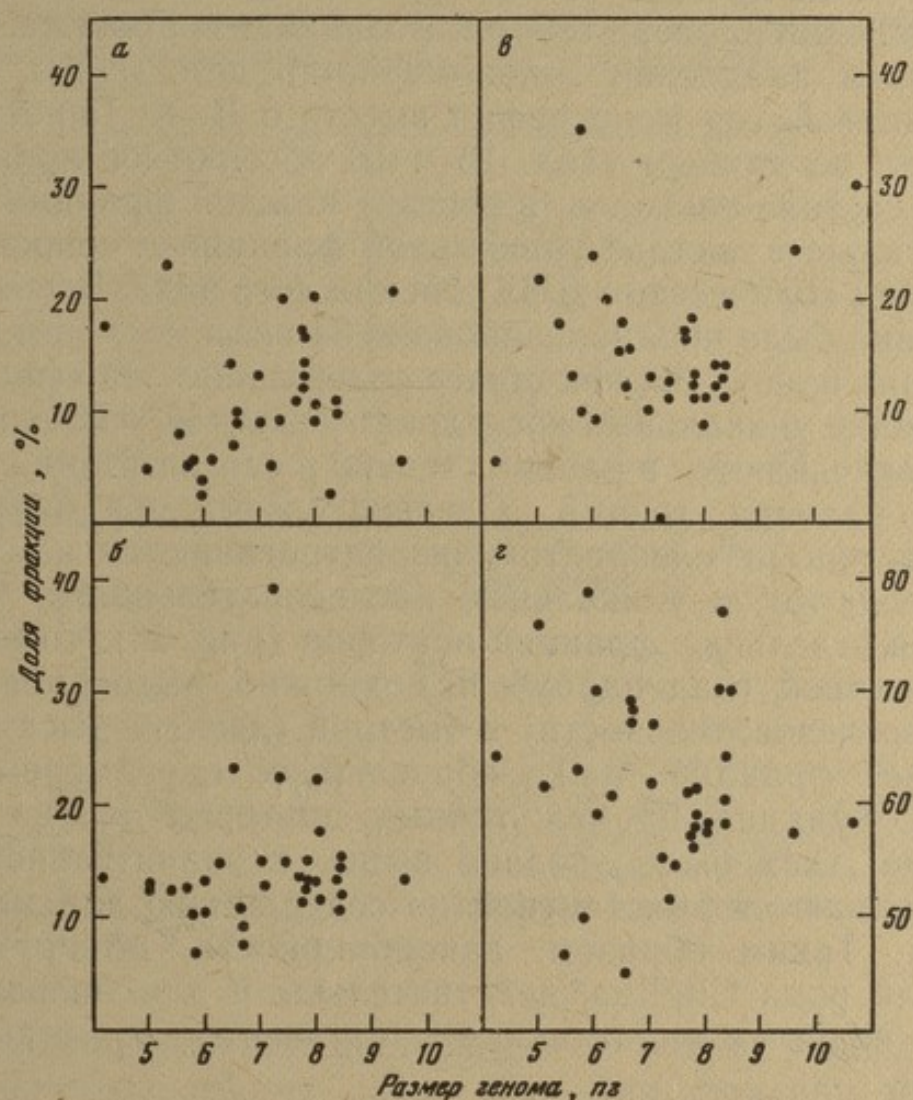


Рис. 31. Взаимоотношение между размером генома и долей очень быстрой (а), быстрой (б), промежуточной (в) и медленной (г) фракций ДНК у млекопитающих

нии умеренно быстрой, промежуточной и уникальной фракций. Лишь доля очень быстрой фракции в целом увеличивается в соответствии с увеличением размера генома. Здесь еще раз можно отметить, что доля быстрой фракции с повторяемостью 10—100 тыс. очень стабильна у млекопитающих и при двукратном изменении размера генома она варьирует, за редким исключением, лишь в пределах 10—15%.

При исследовании структуры генома сусликов и хомяков мы обнаружили, что между абсолютным содержанием ДНК в составе повторов и в составе уникальных последовательностей, с одной стороны, и содержанием ДНК во всем геноме — с другой, имеется положительная корреляция (см. рис. 20 и 22). Для сусликов, кроме того, была выявлена положительная линейная связь между содержанием в геноме очень быстрой и быстрой фракций повторов и размером генома. Лишь промежуточная фракция у них не изменялась при изменении размера генома. Возникает вопрос: насколько характерна найденная закономерность для других млекопитающих? Автор монографии вместе с Л. К. Гинатулиной вычислил по данным табл. 16 и 18 абсолютное количество ДНК в составе повторов, в составе каждой фракции повторов, а также в составе уникальной фракции и сопоставил с тотальным количеством ДНК для каждого вида. Всего в этом отношении было проанализировано 34 вида млекопитающих. Как видно из рис. 32, как общее содержание повторов, так и содержание уникальных последовательностей у млекопитающих увеличиваются в равной степени в соответствии с увеличением размера генома. Следовательно, при изменении размера генома млекопитающих затрагиваются как повторяющиеся, так и уникальные последовательности. Что же касается отдельных фракций повторов (рис. 33), то размеры очень быстрой (палиндромы и, возможно, высокоповторяющиеся последовательности) и быстрой (десятки тысяч копий в геноме) фракций также коррелируют с размером всего генома. Фракция промежуточных повторов (сотни копий в геноме), как было указано выше, в значительной мере поддерживаются константной по содержанию для млекопитающих. Таким образом, закономерности, обнаруженные нами для рода *Citellus*, действительны и для большинства других видов млекопитающих, изученных к настоящему времени.

Из рис. 24 и 31 следует, что процентное содержание умеренно быстрой фракции (десятки тысяч копий) колеблется незначительно — около значения 12—13%, а у 75% видов оно равно 10—15%. По абсолютному же содержанию

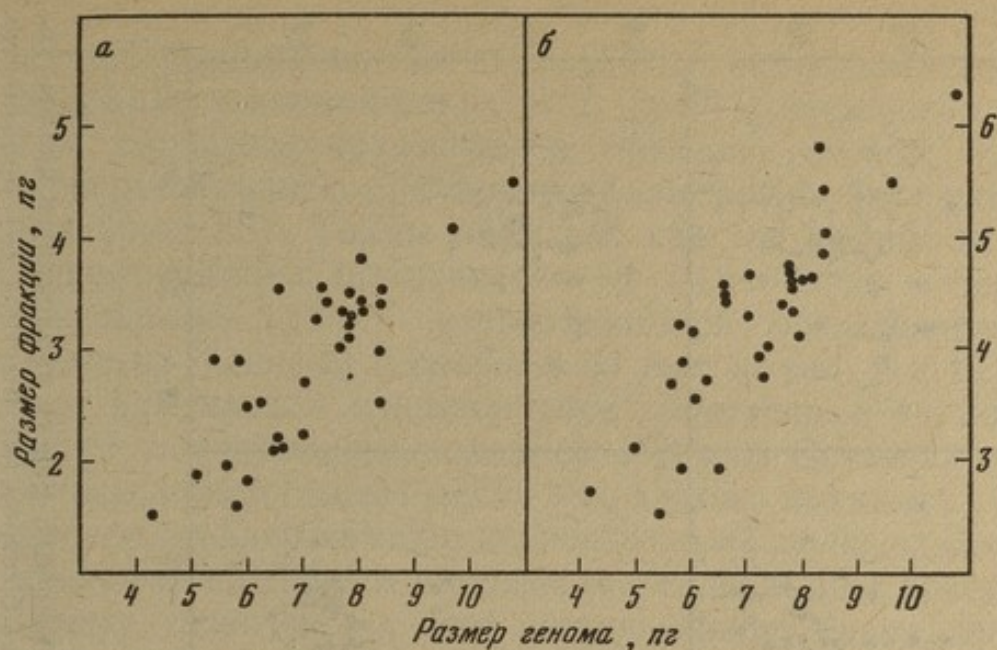


Рис. 32. Корреляция между размером генома и содержанием ДНК в составе повторов (а) и уникальной фракции (б) у млекопитающих

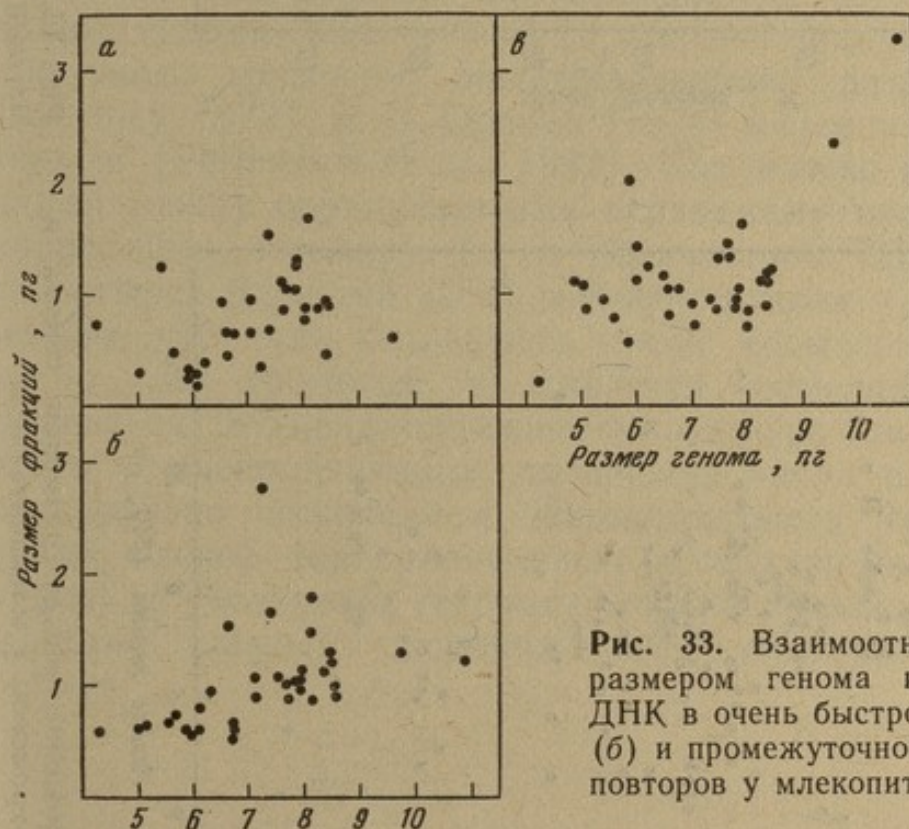


Рис. 33. Взаимоотношение между размером генома и содержанием ДНК в очень быстрой (а), быстрой (б) и промежуточной (в) фракциях повторов у млекопитающих

ДНК эта фракция изменяется строго в соответствии с изменением размера генома (рис. 33). Для фракции промежуточных повторов (со средней частотой повторяемости, равной 400) по относительному содержанию в геноме млекопитающих какой-либо закономерности обнаружить не удастся; в отношении же ее абсолютного содержания в геноме

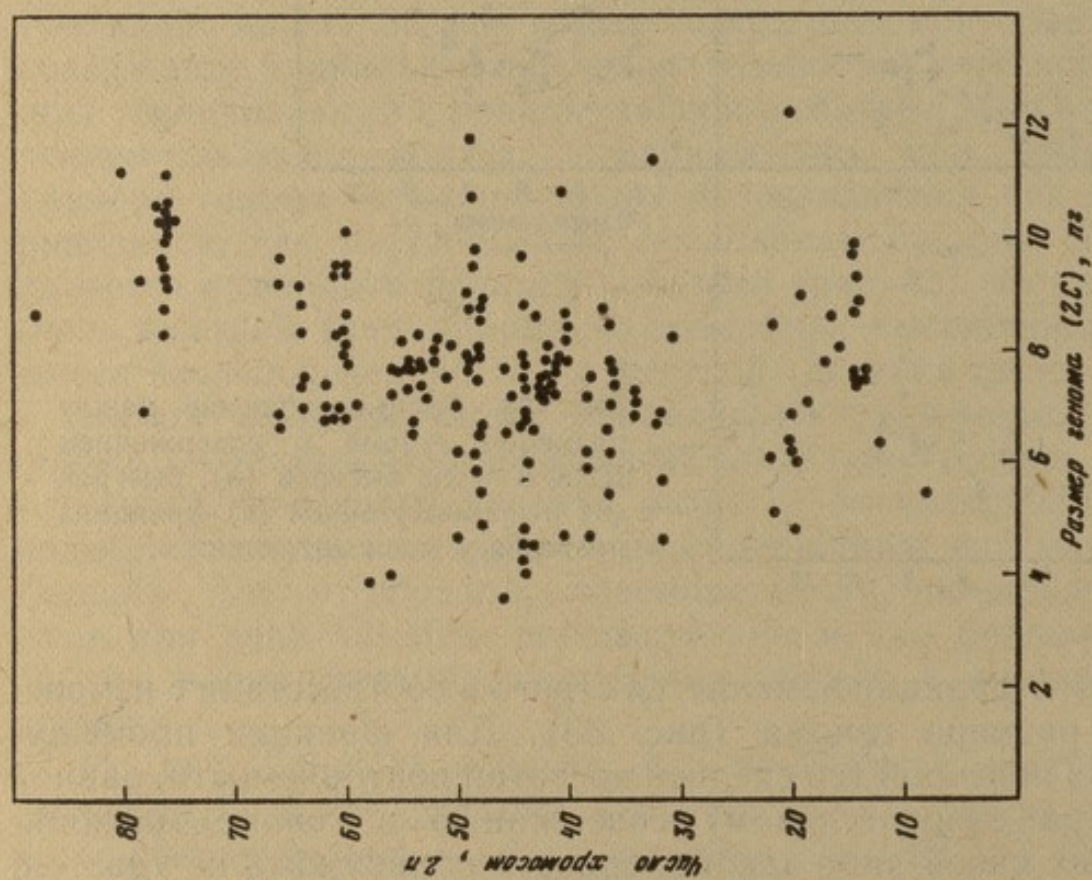


Рис. 34. Взаимоотношение между размером генома и диплоидным числом хромосом у млекопитающих

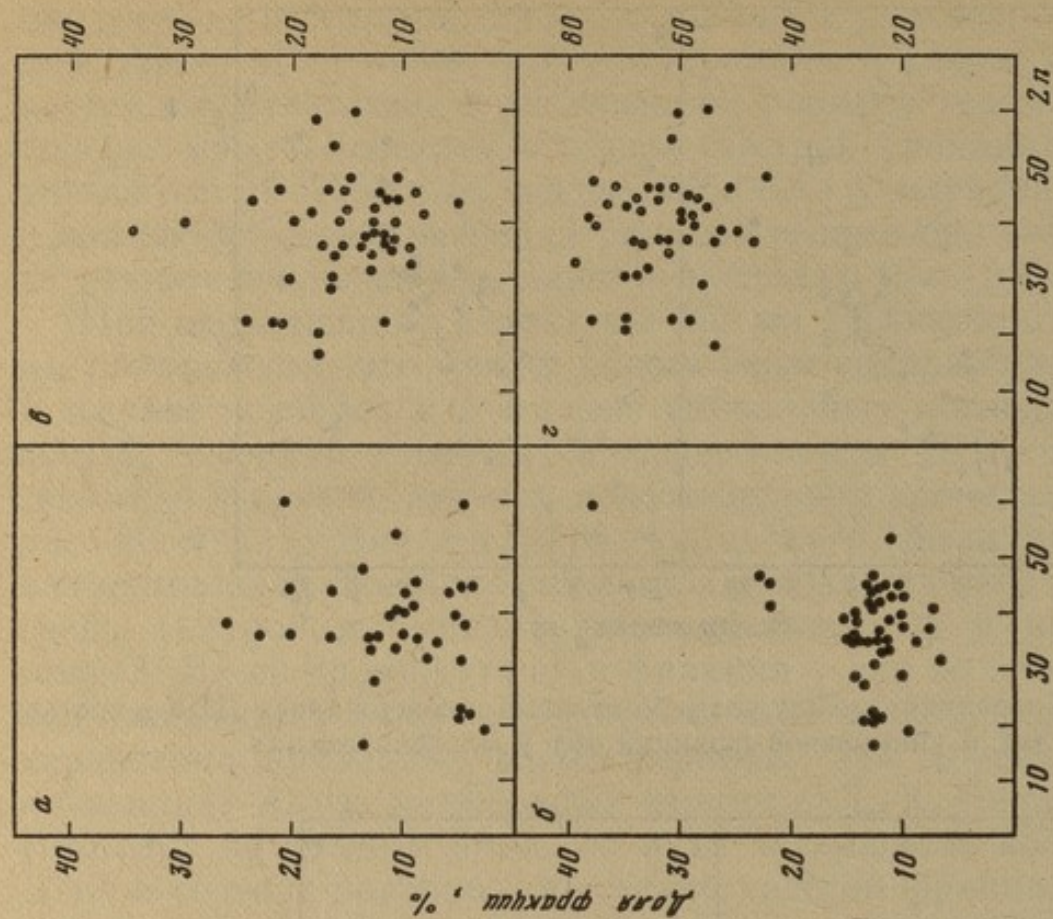


Рис. 35. Взаимоотношение между диплоидным числом хромосом и долей очень быстрой (а), быстрой (б), промежуточной (в) и медленной (г) фракций ДНК млекопитающих

млекопитающих можно сказать, что оно колеблется в узком интервале значений вокруг 1 пг (у 70% изученных видов при этом вариации находятся в пределах от 0,7 до 1,3 пг), и совершенно не коррелирует с размером генома млекопитающих (рис. 33). Таким образом, как мы видим, в эволюции млекопитающих практически *не изменяется относительное содержание (доля) повторяющихся последовательностей, имеющих в геноме в среднем 50 тыс. копий*, и в то же время *мало изменяется и абсолютное содержание последовательностей, повторенных в среднем 400 раз*. Остается пока непонятным, почему имеет место и по какому механизму протекает процесс, поддерживающий постоянной долю одних последовательностей ДНК и абсолютное содержание других. По-видимому, ответить на этот вопрос можно будет, лишь поняв функции отдельных групп последовательностей генома как повторяющейся, так и большей части уникальной ДНК.

Для выявления возможной связи размера генома с числом хромосом мы отложили на рис. 34 по оси абсцисс размер генома (2С) из табл. 18, а по оси ординат — диплоидное число хромосом, воспользовавшись данными Маттея [Matthey, 1973], В. Н. Орлова [1974] и Пелличчиари с соавторами [Pellicciari et al., 1982]. Как можно видеть, корреляция между сравниваемыми величинами отсутствует. Нет корреляции и между $2n$ и количеством ДНК в каждой из четырех фракций ДНК млекопитающих (рис. 35). Возможно, что если бы вместо числа хромосом было взято число плеч хромосом, то какая-то корреляция могла бы выявиться. Это предположение основано на том, что довольно часто у млекопитающих увеличение числа плеч хромосом обусловлено появлением дополнительных гетерохроматиновых блоков (по сравнению с хромосомами родственных видов), а увеличение гетерохроматина в хромосомах в большинстве случаев сопровождается увеличением размера генома.

ГЕНОМ ПОЗВОНОЧНЫХ: ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АСПЕКТ

§ 1. Структура генома позвоночных

К настоящему времени изучена кинетика реассоциации ДНК более 130 видов хордовых. У всех видов обнаружены повторяющиеся последовательности. По количеству повторяющихся последовательностей в геноме исследованные виды можно разделить на три группы. Наименьшее количество повторов обнаружено у примитивного хордового — ланцетника *Amphioxus* — 15% (подтип голохордовые), а также у птиц — в среднем 25%. У асцидий (подтип оболочники) [Lambert, Laird, 1971; Weinblum et al., 1973; Schmidtke et al., 1979a], рептилий и млекопитающих повторов в геноме несколько больше, в среднем 38—42%. У миноги, у рыб и амфибий повторяющиеся последовательности занимают более половины генома — среднее значение доли повторов составляет у хрящевых рыб 59%, у костных рыб 56, у амфибий 69 (у единственного изученного круглоротого 60%).

Все изученные виды характеризуются наличием в геномах трех «классических» групп последовательностей, выявляемых на кинетических кривых в виде очень быстро реассоциирующей, промежуточной и медленно реассоциирующей фракций. Очень быстро реассоциирующая содержит обращенные повторы и иногда высокоповторяющиеся последовательности. Группа последовательностей с частотой повторяемости 10^2 — 10^5 также может быть гетерогенна. В основном сюда входят последовательности с промежуточной скоростью реассоциации (10^2 — 10^3 копий). В ряде случаев хорошо определяется вторая фракция, умеренно быстро реассоциирующая, с частотой повторяемости от 10^4 до 10^5 . По-видимому, эти фракции присутствуют в геномах всех позвоночных либо в равных количествах, либо с преобладанием одной из них. Так, например, сотенные повторы четко выявляются в геномах птиц и рептилий, а быстрые повторы, имеющие десятки тысяч копий, выявляются редко, иногда только при детальном анализе изолированных повторов. Наоборот, в геноме быка *Bos taurus* не выявлена промежуточная

фракция, тогда как быстрая составляет почти 40% [Davidson, Britten, 1973]. Медленно реассоциирующая фракция представлена главным образом неповторяющимися, уникальными последовательностями. Иногда удается выявить фракцию малоповторяющихся последовательностей (2—40 копий) [Куприянова и др., 1976; Gasaryan et al., 1977; Wu et al., 1977; Eden, Hendrick, 1978; Deininger, Schmid, 1979; и др.].

Анализируя кинетику реассоциации ДНК около двух десятков изученных нами видов млекопитающих, мы пришли к выводу о чрезвычайном консерватизме структуры генома млекопитающих по частоте повторяемости составляющих ее фракций [Ginatulina et al., 1980]. Увеличение числа изученных видов, а также анализ литературных данных в основном подтвердили это. Этот вывод можно, по-видимому, сделать относительно структуры генома рыб, по крайней мере лососевых, и амфибий. Относительное же количество тех или иных фракций в геноме может варьировать в широких пределах даже у близкородственных видов. Сопоставляя структуру генома изученных позвоночных, можно отметить некоторое сходство между рыбами и амфибиями, с одной стороны, и птицами и рептилиями — с другой. Что же касается млекопитающих, то относительно малая доля повторов в геноме сближает их с птицами и рептилиями, а выраженная гетерогенность повторов по частоте повторяемости — с рыбами и амфибиями.

§ 2. Отсутствие единого типа организации генома позвоночных

Исследуя молекулярную организацию генома *Xenopus laevis* (класс Amphibia), пионеры данного направления исследований Бриттен, Дэвидсон и соавторы обнаружили, что около 50% генома лягушки организовано в виде регулярно чередующихся коротких повторов (0,3 т. п. н.) и несколько более длинных (0,8—1,2 т. п. н.) неповторяющихся последовательностей — так называемый «*Xenopus*-тип» организация генома [Davidson et al., 1973]. Этот тип организации был найден позже в геномах других амфибий [Baldari, Amaldi, 1976, 1977], рыб [Тутуров и др., 1977; Куприянова и др., 1977; Гинатулин, Гинатулина, 1979а; Ginatulin et al., 1980] и млекопитающих [Schmid, Deininger, 1975; Pearson et al., 1978]. У некоторых же позвоночных организация генома ближе по характеру интерсперсии последовательностей к таковой *Drosophila melanogaster*, которая характеризуется

в 10 раз более длинным периодом чередования повторяющихся и уникальных последовательностей [Manning et al., 1975; Crain et al., 1976a]. Этот тип строения генома характерен главным образом для представителей класса птиц (см. главу 5, а также: [Arthur, Straus, 1978; Epplen et al., 1978, 1979; Гинатулин, Гинатулина, 1979а, б; Гинатулин и др., 1979; Ginatulin et al., 1980; и др.]) и некоторых млекопитающих [Moyzis et al., 1977, 1981a; Гинатулин, 1979; Гинатулин, Гинатулина, 1980]. Интересно отметить, что разные типы организации генома найдены не только у представителей разных классов, но и у представителей одного класса и даже отряда. Например, морская и коробчатая черепахи (класс Reptilia), а также крысы, хомяки и суслики (класс Mammalia) отличаются друг от друга по типу организации уникальных и повторяющихся последовательностей [Pearson et al., 1978; Гинатулин, 1979; Гинатулин, Гинатулина, 1979а, б; Epplen et al., 1979; Гинатулин, Гинатулина, 1980; Гинатулина, 1982; Ginatulin et al., 1983]. В геноме коробчатой черепахи более 50% уникальных последовательностей являются короткими и чередуются с повторами, а в геноме морской черепахи короткие уникальные последовательности составляют лишь 13%, но в то же время короткие повторы составляют большую часть всей фракции повторов (у коробчатой черепахи лишь 20%). В геноме крысы 75% фракции уникальных последовательностей представлено чередующимися с повторами короткими участками, тогда как в геноме других грызунов, например арктического суслика, таких последовательностей всего 7%.

Рассматривая результаты исследования ДНК позвоночных, нетрудно заметить, что доля в геномах различных чередующихся структур может сильно различаться даже у близких видов. Так, у сусликов рода *Citellus* доля «дрозофильных» (умеренно длинных) уникальных последовательностей возрастает от нуля до 30% в ряду *C. parryi*, *C. undulatus*, *C. pygmaeus*, *C. major* и *C. fulvus* (см. главу 6). Количество же неповторяющихся последовательностей ДНК протяженностью более 10 т. п. н. варьирует от 10—20% у амфибий до 40—80% у птиц, рептилий и млекопитающих. В то же время в геноме человека и крысы их столько же, сколько в геноме рыб и амфибий. Имеются различия и в организации отдельных фракций. Обычно в ДНК организмов с «Хепорус-типом» обращенные повторы широко рассеяны (интерсперсны) среди других типов последовательностей. Это наблюдается в геномах ланцетника [Schmidtke et al., 1979a], рыб [Куприянова и др., 1977; Гинатулин,

Гинатулина, 1979a: Hanham, Smith, 1979; Ginatulin et al., 1980], амфибий [Davidson et al., 1973; Baldari, Amaldi, 1976] и человека [Schmid, Deininger, 1975]. Однако в геномах крокодила [Erpllen et al., 1979] и крысы [Pearson et al., 1978], где промежуточные повторы интенсивно чередуются с уникальными последовательностями с коротким периодом, обращенные повторы расположены более сблоченно.

С другой стороны, одинаковая организация повторяющихся последовательностей ДНК обнаружена у филогенетически далеких видов, таких, как панцирная щука, некоторые птицы, морская черепаха и арктический суслик *C. paraguayi*, т. е. у представителей трех разных классов позвоночных. Из кинетических кривых следует, что в ДНК этих видов преобладает сверхдлинный период интерсперсии последовательностей.

Суммируя известные данные по пока еще малому числу видов позвоночных, следует отметить большое разнообразие вариантов организации геномов как у представителей разных классов, так и внутри отдельных классов. При этом все же можно сказать, что в целом по способу организации геномов очень близки между собой рыбы и амфибии. Отличаются от них и друг от друга представители класса птиц. Геномная же организация рептилий и в большей степени млекопитающих не имеет своих особых черт. В этом классе можно найти все варианты и структуры и организации геномов, обнаруженные у разных представителей остальных классов типа хордовых.

§ 3. Сравнительный анализ структуры и организации геномов эукариот

1. Структура геномов, грибов, растений и беспозвоночных животных

Краткие сведения о структуре генома растений и беспозвоночных приведены соответственно в табл. 19 и 20, которые составлены по тому же принципу, что и аналогичные для отдельных классов позвоночных. Следует отметить, что, как и в случае с позвоночными, не все виды исследованы достаточно детально, часто приводятся сведения только по общему содержанию повторов. К сожалению, не все имеющиеся сведения по кинетике реассоциации ДНК можно было трактовать как сведения о структуре генома. Так, в очень содержательной работе Бахманна и Прайса [Bachmann, Price,

Таблица 19. Структура генома грибов и растений

Вид	Частота повторяе- мости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Грибы Mycota			
Класс Chytridiomycetes			
Blastocladales			
Allomyces arbuscula (ядерная ДНК)	ОП+10 ⁵ 320 1	0,10 0,10 0,80	Ojha et al., 1977
(вся клеточная ДНК)	ОП+10 ⁵ 320 1	0,25 0,10 0,65	Те же
Класс Oomycetes			
Saprolegniales			
Achlya bisexualis	ОП 2 200 80 1	0,02 0,02 0,14 0,82	Hudspeth et al., 1977
Класс Zygomycetes			
Mucorales			
Phycomyces blakeslee- anus	ОП 40 1	0,10 0,35 0,52	Harshey et al., 1979
Класс Ascomycetes			
Endomycetales			
Saccharomyces cerevi- siae	ОП ПП 1	0,02 0,11 0,80	
Sphaeriales			
Neurospora crassa	ОП 140 1	0,02 0,08 0,90	Krumlauf, Marzluf, 1979
Класс Bazidiomycetes			
Aphylllophorales			
Schizophyllum commu- nae	ОП 600 1	0,04 0,05 0,91	Dons, Wessels, 1980
Agaricales			
Pluteus cervinus	97 1	0,27 0,73	Мирошниченко и др., 1979

Таблица 19 (продолжение)

Вид	Частота повторяе- мости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Класс Deuteromycetes			
Hyphomycetales			
Penicillium cyclopium	ОП	0,02	Мирошниченко и др., 1979
	2 200	0,12	
	25	0,09	
	1	0,77	Timberlake, 1978
Aspergillus nidulans	600	0,03	
	1	0,97	
Растения Planta			
Отдел Пирофитовые водоросли Pyrrophyta			
Cryptocodinium coh- nii	ОП	0,04	Hinnebush et al., 1980
	10 ² —10 ⁵	0,37	
	1	0,50	
Отдел Эвгленовые водоросли Euglenophyta			
Euglenales			
Euglena gracilis	ОП	0,13	Rawson et al., 1979
	1 120	0,34	
	5	0,31	
	1	0,12	
Отдел зеленые водоросли Chlorophyta			
Clorococcales			
Chlorella pyrenoidosa	ОП	0,05	Bayen, Dalman, 1975
	4	0,15	
	1	0,80	
Отдел Голосеменные Gymnospermae			
Класс Pinopsida			
Pinales			
Picea glauca	82 000	0,07	Rake et al., 1980
	7 600	0,32	
	1 200	0,11	
	100	0,18	
	1	0,32	
Pinus blanksiana	140 000	0,12	Те же
	18 000	0,19	
	1 200	0,24	
	30	0,22	
	1	0,23	

Таблица 19 (продолжение)

Вид	Частота повторности фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>P. lambertiana</i>	150 000 21 000 1 800 50 1	0,04 0,27 0,25 0,23 0,21	Rake et al., 1980
<i>P. resinosa</i>	57 000 46 000 3 400 6 1	0,04 0,12 0,23 0,33 0,28	»

Отдел Покрытосеменные Angiospermae

Класс Dicotyledones

Magnoliales			
<i>Magnolia soulaugiana</i>	ПП	0,40	Shaan, Nagl, 1979
	1	0,60	
<i>Lariodendron tulipifera</i>	ПП	0,48	Те же
	1	0,52	
Laurales			
<i>Cinnamomum camfora</i>	ПП	0,37	»
	1	0,63	
Ranunculales			
<i>Decaisnea fargesii</i>	ПП	0,49	»
	1	0,51	
<i>Anemone virginiana</i>	ПП	0,67	Cullis, Schweizer, 1974
	1	0,33	
<i>A. riparia</i>	ПП	0,67	Те же
	1	0,33	
<i>A. cylindrica</i>	ПП	0,65	»
	1	0,35	
<i>A. coronaria</i>	ПП	0,53	»
	1	0,47	
<i>A. pavoniana</i>	ПП	0,62	»
	1	0,38	
<i>A. blanda</i>	ПП	0,57	»
	1	0,43	
Caryophyllales			
<i>Stellaria media</i>	ПП	0,69	Flavell et al., 1974
	1	0,31	
<i>Beta vulgaris</i>	ПП	0,63	Те же
	1	0,37	
Capparales			
<i>Matthiola incana</i>	ОП	0,07	Wenzel, Hemleben, 1979
	970 000	0,20	
	300	0,42	
	1	0,31	

Таблица 19 (продолжение)

Вид	Частота повторности фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>Arabidopsis korshynskyi</i>	ПП 1	0,70 0,30	Nagl et al., 1983
<i>Brassica pekinensis</i>	ОП 23 000 600 1	0,03 0,24 0,28 0,47	Wenzel, Hemleben, 1979
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	ПП 1	0,46 0,54	Flavell et al., 1974
Malvales <i>Gossipium hirsutum</i>	ОП 1 200 000 130 1	0,04 0,08 0,27 0,67	Walbot, Dure, 1976
Fabales <i>Arachis hypogaea</i>	38 000 6 700 200 1	0,12 0,15 0,37 0,36	Dhillon et al., 1980
<i>Lathyrus articulatus</i>	ПП 1	0,56 0,44	Narayan, Rees, 1976
<i>L. nissolia</i>	ПП 1	0,59 0,41	Те же
<i>L. clunense</i>	ПП 1	0,62 0,38	»
<i>L. ochrus</i>	ПП 1	0,60 0,40	»
<i>L. aphaca</i>	ПП 1	0,63 0,37	»
<i>L. cicera</i>	ПП 1	0,58 0,42	»
<i>L. odoratus</i>	ПП 1	0,70 0,30	Nagl et al., 1983
<i>L. sativus</i>	ПП 1	0,66 0,34	Narayan, Rees, 1976
<i>L. tingitanus</i>	ПП 1	0,60 0,40	Те же
<i>L. hirsutus</i>	ПП 1	0,70 0,30	»
<i>Pisum sativum</i>	ПП 1 ОП 10 ² —10 ⁴ 1	0,75 0,25 0,04 0,65 0,30	Flavell et al., 1974
<i>Vicia faba</i>	ПП 1 110 000 3 600 1	0,85 0,15 0,80 0,80 0,20	Murray et al., 1978 Flavell et al., 1974 Walbot, Goldberg, 1979

Таблица 19 (продолжение)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>Phaseolus vulgaris</i>	ПП 1	0,40 0,60	Seshadri, Ranjekar, 1979, 1980
	ПП 1	0,41 0,59	Nagl et al., 1983
<i>P. aureus</i>	ОП 300	0,08 0,40	Seshadri, Ranjekar, 1979
	1	0,52	
<i>P. coccineus</i>	ПП 1	0,65 0,35	Nagl et al., 1983
<i>Vigna radiata</i>	ОП ПП ₁ ПП ₂	0,02 0,05 0,27	Murrey et al., 1979
	1	0,65	
<i>Glycine max</i>	ОП 290 000 2 800 19 1	0,05 0,03 0,34 0,19 0,39	Goldberg, 1978
	ОП 3 850 150 1	0,05 0,28 0,24 0,43	Gurley et al., 1979
<i>Araliales</i>			
<i>Daucus carota</i> (сорт Rote Riesen)	390 1	0,46 0,46	Dührssen, Neumann, 1980
(сорт итальянский культурный)	21 000 170 1	0,01 0,52 0,33	Те же
	ПП 1	0,62 0,38	Flavell et al., 1974
<i>Petroselinum sativum</i>	ОП 140 000 3 000 40 1	0,04 0,13 0,37 0,16 0,13	Kiper, Herzfeld, 1978
<i>Hedera helis</i> (adult)	ПП 1	0,44 0,56	Nagl et al., 1983
(juv.)	ПП 1	0,45 0,55	Те же
<i>Santalales</i>			
<i>Viscum album</i>	ПП 1	0,65 0,35	»
<i>Loranthus europaeus</i>	ПП 1	0,70 0,30	»
<i>Dipsacales</i>			
<i>Sambucus nigra</i>	ПП 1	0,45 0,55	»

Таблица 19 (продолжение)

Вид	Частота повторе- мости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Juncales			
Luzula luzuloides	ПП	0,62	Nagl et al., 1983
	1	0,38	
L. sylvatica	ПП	0,44	Те же
	1	0,56	
L. pilosa	ПП	0,51	»
	1	0,49	
L. purpurea	ПП	0,61	»
	1	0,39	
Commelinales			
Rhoeo discolor	ПП	0,59	»
	1	0,23	
Geraniales			
Linum usitatissimum	ПП	0,59	Flavell et al., 1974
	1	0,41	
	ОП	0,02	Cullis, 1981
	160 000	0,12	
	1 200	0,31	
	45	0,16	
	1	0,38	
Tropaeolum majus	ПП	0,70	Nagl et al., 1983
	1	0,30	
Lamiales			
Lamium purpureum	ПП	0,60	Flavell et al., 1974
	1	0,40	
Scrophulariales			
Nicotiana tabacum	ОП	0,02	Zimmermann, Gold- berg, 1977
	15 000	0,07	
	250	0,50	
	1	0,41	
	ПП	0,45	Nagl et al., 1983
	1	0,55	
	ОП	?	Goldberg, 1980
	20 000	0,15	
	450	0,40	
	65	0,22	
	1	0,18	
Veronica persica	ПП	0,63	Flavell et al., 1974
	1	0,37	
Rhinantus minor	ПП	0,70	Nagl et al., 1983
	1	0,30	
Asterales			
Anthemis montana	ПП	0,63	Fuhrmann, Nagl, 1979
	1	0,37	
A. altissima	ПП	0,67	Те же
	1	0,33	
Anacyclus depressus	ПП	0,89	»
	1	0,11	

Таблица 19 (продолжение)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>A. radiatus</i>	ПП 1	0,70 0,30	Fuhrmann, Nagl, 1979
<i>Heliantus annuus</i>	ПП 1	0,69 0,31	Flavell et al., 1974
<i>Senecio vulgaris</i>	ПП 1	0,74 0,26	
Класс Monocotyledones			
Liliales			
<i>Allium cepa</i>	ОП 22 000 225 1	0,07 0,41 0,36 0,06	Stack, Comings, 1979
	ПП 1	0,95 0,05	Мирошниченко и др., 1974
<i>Canvallaria majalis</i>	ПП 1	0,70 0,30	Те же
<i>Majanthemum bifolium</i>	ПП 1	0,60 0,40	»
Orhidales			
<i>Orchis maculata</i>	ПП 1	0,85 0,15	»
<i>Platanthera bifolia</i>	ПП 1	0,85 0,15	»
<i>Anacamptis pyramidalis</i>	ПП 1	0,70 0,30	»
<i>Brassica maculata</i>	ПП 1	0,45 0,55	Nagl et al., 1983
<i>Cymbidium pimum</i>	ПП 1	0,45 0,55	Те же
Poales			
<i>Poa trivialis</i>	ПП 1	0,82 0,18	Flavell et al., 1974
<i>P. annua</i>	ПП 1	0,87 0,13	Те же
<i>Zea mays</i>	ПП 1	0,78 0,22	»
	ОП ПП ₁ ПП ₂ 1	0,03 0,17 0,36 0,35	Hake, Walbot, 1980
<i>Hordeum vulgare</i>	ПП 1	0,76 0,24	Flavell et al., 1974
	ОП ПП ₁ ПП ₂ 1	0,10 0,34 0,30 0,26	Ranjekar et al., 1976

Таблица 19 (окончание)

Вид	Частота повторности фракций	Доля в геноме	Автор, год	
Secale cereale	ОП	0,10	Ranjekar et al., 1974	
	37 500	0,33		
	850	0,31		
	1	0,26		
	ПП	0,92	Flavell et al., 1974	
	1	0,08		
	ОП	0,11	Smith, Flavell, 1977	
	ПП ₁	0,30		
	ПП ₂	0,47		
	1	0,12		
Triticum monococcum	ПП	0,80	Flavell et al., 1974	
	1	0,20		
T. aestivum	ПП	0,83	Те же	
	1	0,17		
	ОП	0,04	Flavell et al., 1976	
	50 000	0,70		
	450			
	1	0,25		
	ОП	0,10	Ranjekar et al., 1976	
	ПП ₁	0,35		
	ПП ₂	0,34		
	1	0,14		
Avena sativa	ПП	0,83	Flavell et al., 1974	
1	0,17			
Oryza sativa	ОП	0,04	Gupta et al., 1981	
	13 000	0,27		
	70	0,25		
	1	0,34		
	ПП	0,64	Ijengar et al., 1979	
	1	0,36		
	O. rufipogon	ПП	0,60	Те же
		1	0,40	
	O. glaberrima	ПП	0,63	»
	1	0,37		
O. longistaminata	ПП	0,60	»	
1	0,40			
O. stapfii	ПП	0,56	»	
1	0,44			
O. barthii	ПП	0,58	»	
1	0,42			
Pinnicetum americanum	ОП	0,23	Wimpee, Rawson, 1979	
	300	0,47		
	1	0,17		
Arales				
Arum maculatum	ПП	0,84	Nagl et al., 1983	
	1	0,10		

Примечание. ОП — обращенные повторы, ПП — общее количество повторяющихся последовательностей.

Таблица 20. Структура генома беспозвоночных

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Тип Простейшие Protozoa			
Класс Sarcodina			
Amoebina			
Acanthamoeba castellanii	130 1	0,30 0,70	Jantzen, 1973
Класс Mastigophora			
Kinetoplastida			
Leishmania donovani	ОП 77 1	0,12 0,13 0,62	Leon et al., 1978
Trypanosoma cruzi	2 500 26 1	0,09 0,35 0,49	Castro et al., 1981
Класс Infusoria			
Hymenostomata			
Paramecium aurelia	ОП 100 1	0,03 0,12 0,85	Cummings, 1975
P. primaurelia	200 1	0,02 0,98	McTavish, Somerville, 1980
P. bursaria	ПП 1	0,02 0,98	Steinbrück et al., 1981
	ПП 1	0,13 0,87	Cullis, 1972
Paraurostyla weissei	ПП 1	0,02 0,98	Steinbrück et al., 1981
Euplotes aediculatus	ПП 1	0,02 0,98	Те же
Oxytricha similis	ПП 1	0,02 0,98	»
Tetrachymena pyriformis	ОП 10 1	0,04 0,05 0,90	Borchsenius et al., 1978
Hypotricha			
Stylonicchia mytilis	ПП 1	0,02 0,98	Steinbrück, et al., 1981
Тип Кишечнополостные Coelenterata			
Класс Scyphozoa			
Semaeostomeae			
Aurelia aurita	ОП 180 1	0,04 0,53 0,36	Goldberg et al., 1975

Таблица 20 (продолжение)

Вид	Частота повторяе- мости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Тип Немертины Nemertina			
Класс Nemertini			
Cerebratulus lacteus	ОП 1 000 40 1	0,05 0,28 0,34 0,33	Goldberg et al., 1975
Тип Круглые черви Nemathelminthes			
Класс Nematoda			
Ascaridida			
Ascaris suum (lumbri- coides) (эмбрионы, 4 клетки)	ОП 5 900 1	0,01 0,24 0,75	Goldstein, Straus, 1978
A. suum (взрослые особи)	ОП 3 300 1	0,03 0,13 0,84	Те же
A. suum	300 1	0,10 0,90	Roth, 1979
Rhabditida			
Caenorhabditis elegans	ОП 300 1	0,03 0,15 0,80	Schachat et al., 1978
Panagrellus silusiae	ОП 860 1	0,09 0,26 0,61	Beauchamp et al., 1979
Тип Членистоногие Arthropoda			
Класс Crustacea			
Anostraca			
Artemia salina	20 000 5 000 1	0,16 0,39 0,45	Vaughn, 1977
Libinia emarginata	30 000 3 000 1	0,30 0,40 0,30	Те же
Decapoda			
Cancer borealis	30 000 2 500 1	0,40 0,30 0,30	»
Gerion quiquedens	ОП 4 · 10 ⁶ 83 000 1	0,04 0,22 0,34 0,35	Christie, Skinner, 1979

Таблица 20 (продолжение)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>Gecarcinus lateralis</i>	12 000	0,25—0,30	Vaughn, 1977
	10^3 — 10^4	0,25	
	1	0,30	
	ОП	0,06	Holland, Skinner, 1977
	152 000	0,18	
	4 700	0,17	
	1	0,50	
Класс Xiphosura			
<i>Limulus polyphemus</i>	ОП	0,07	Goldberg et al., 1975
	2 000	0,16	
	50	0,11	
	1	0,58	
Класс Insecta			
Thysanura			
<i>Thermobia domestica</i>	ОП	0,03	French, Manning, 1980
	2 100	0,25	
	80	0,36	
	1	0,33	
Odonata			
<i>Aeshna aquamata</i>	ОП	0,09	Петров, Алешин, 1982
	380	0,24	
	1	0,63	
	ПП	0,33	Петров, Алешин, 1983
	1	0,67	
<i>A. juncea</i>	ПП	0,40	Те же
	1	0,60	
<i>Calopteryx splendens</i>	ОП	0,18	Петров, Алешин, 1982
	250	0,15	
	1	0,63	
	ПП	0,33	Петров, Алешин, 1983
	1	0,67	
<i>Lindenia tetraphylla</i>	ПП	0,20	Те же
	1	0,80	
<i>Gomphus flavipes</i>	ПП	0,20	»
	1	0,80	
<i>Ophiogomphus cecilia</i>	ПП	0,35	»
	1	0,65	
<i>Cordulegaster coronatus</i>	ПП	0,73	»
	1	0,27	
<i>Libellula quadrimaculata</i>	ПП	0,30	»
	1	0,70	
<i>Orthetrum ramburi</i>	ПП	0,25	»
	1	0,75	
<i>Sympetrum meridionale</i>	ПП	0,47	»
	1	0,53	

Таблица 20 (продолжение)

Вид	Частота повторности фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>Enallagma cyathigerum</i>	ПП 1	0,30 0,70	Петров, Алешин, 1983
Blattoidea			
<i>Blatta orientalis</i>	ПП 1	0,25 0,75	Адо, Видута, 1980
<i>Blaberus giganteus</i>	ПП 1	0,43 0,57	Те же
Lepidoptera			
<i>Limanthria dispar</i>	ПП 1	0,45 0,55	»
<i>Hylophyla prasiana</i>	ПП 1	0,40 0,60	»
<i>Bombyx mori</i>	ПП 1	0,42 0,58	»
	50 000	0,24	Gage, 1974
	500	0,21	
	1	0,55	
<i>Antheraea pernyi</i>	ОП 500	0,05 0,30	Efstratiadis et al., 1976
	15	0,30	
	1	0,35	
Orthoptera			
<i>Chortippus brunneus</i>	ПП 1	0,50 0,50	Wilmore, Bron, 1975
<i>C. parallelus</i>	ПП 1	0,48 0,52	Те же
<i>C. montanus</i>	ПП 1	0,73 0,27	Высоцкая, Тутурова, 1981
<i>Murmeoleotettis maculatus</i>	ПП 1	0,35 0,65	Wilmore, Brown, 1975
<i>Locusta migratoria</i>	ПП 1	0,30 0,70	Те же
<i>Chortoicetes terminifera</i>	ПП 1	0,80 0,20	»
<i>Schistocerca gregaria</i>	ПП 1	0,35 0,65	»
<i>Pararcyptera microptera</i>	ПП 1	0,74 0,26	Высоцкая, Тутурова, 1981
<i>Conophyta semenovi</i>	ПП 1	0,73 0,27	Те же
<i>Bryodema tuberculatum</i>	ПП 1	0,75 0,25	»
<i>Gomphomastax clavata</i>	ПП 1	0,63 0,37	»
Coleoptera			
<i>Dermestes haemorrhoidales</i>	77 000	0,33	Rees et al., 1976
	2 500	0,02	
	1	0,52	

Таблица 20 (продолжение)

Вид	Частота проявляе- мости фракций	Доля в геноме	Автор, год
D. irischii	21 000	0,46	Rees et al., 1976
	70	0,15	
	1	0,39	
D. maculatus	87 000	0,49	Те же
	90	0,16	
	1	0,35	
D. lardarius	38 000	0,55	»
	40	0,15	
	1	0,30	
D. ater	900 000	0,35	»
	80 000	0,12	
	110	0,10	
	1	0,43	
D. peruvianus	150 000	0,70	»
	50	0,10	
	1	0,20	
Diptera			
Musca domestica	42 000	0,25	Hogh-Evans et al., 1980
	220	0,19	
	1	0,37	
	ОП	0,07	Crain et al., 1976b
	18 000	0,23	
	200	0,22	
	1	0,34	
Sarcophaga bullata	80	0,07	Laird, McCarthy, 1969
	1	0,93	
	ОП	0,04	Samols, Swift, 1979
	2 400	0,09	
	60	0,06	
	1	0,81	
Drosophila melanogaster	60	0,07	Laird, McCarthy, 1969
	1	0,93	
	ОП	0,06	Manning et al., 1975; Crain et al., 1976a
	24 000	0,12	
	70	0,12	
	1	0,70	
D. simulans	60	0,07	Laird, McCarthy, 1969
	1	0,93	
D. hydei	ПП	0,03	Те же
	1	0,97	
Chironomus tummi	ПП ₁	0,13	Scheller, Maschek, 1978
	ПП ₂	0,07	
	1	0,87	
C. tentans	90	0,10	Wells et al., 1976
	1	0,90	
Calliphora vicina	ОП	0,06	Scheller, Maschek, 1978
	150	0,14	
	1	0,80	

Таблица 20 (продолжение)

Вид	Частота повторе- мости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Himenoptera			
<i>Apis mellifera</i>	ПП 1	0,07 0,92	Crain et al., 1976b
		0,11	
	1	0,89	
<i>A. cerata</i>	ПП 1	0,11 0,89	
<i>Megachile retundata</i>	ПП 1	0,11 0,89	
Hemiptera			
<i>Oncopeltus fasciatus</i>	ПП 1	0,40 0,60	Lagowski et al., 1973

Тип Моллюски Mollusca

Класс Gastropoda

Tectibranchia			
<i>Aplysia californica</i>	ОП 7 · 10 ⁶ 4 600 85 1	0,07 0,17 0,22 0,16 0,40	Angerer et al., 1975
<i>Nassaria (Ilyanassa) absoleta</i>	ОП 1 000 20 1	0,18 0,15 0,12 0,38	Davidson et al., 1971

Класс Bivalvia

Dysodonta			
<i>Crassostrea virginica</i>	ОП 3 000 20 1	0,01 0,10 0,28 0,51	Kamalay et al., 1976
	ОП 40 1	0,09 0,53 0,38	Goldberg et al., 1975
<i>Crenomytilus grayanus</i>	80 000 300 1	0,10 0,26 0,64	Петров, Антонов, 1974
<i>Anodonta sp.</i>	ОП 2 500 1	0,09 0,37 0,54	Те же
Eulamellibranchia			
<i>Unio pictorum</i> , <i>U. timidis</i> , <i>U. crassus</i>	3 300 50 1	0,22 0,24 0,54	»

Таблица 20 (продолжение)

Вид	Частота повторяемости фракций	Доля в геноме	Автор, год
<i>Spisula solidissima</i>	ОП 3 700 30 1	0,04 0,18 0,40 0,32	Goldberg et al., 1975

Тип Иголокожие Echinodermata

Класс Asteroidea

Forcipulatida			
<i>Asterias amurensis</i>	ОП 2 000 200 1	0,12 0,18 0,12 0,58	Brykov et al., 1979
<i>Pisaster ochraceous</i>	ОП 500 10 1	0,08 0,12 0,20 0,60	Smith, Boal, 1978
Spinulosida			
<i>Dermasterias imbricata</i>	ОП 2 000 10 1	0,06 0,12 0,38 0,41	Smith et al., 1980

Класс Echinoidea

Echinoida			
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	ОП 1 500 100 1	0,04 0,19 0,27 0,50	Graham et al., 1974
<i>S. intermedius</i>	ОП 2 000 200 1	0,05 0,15 0,20 0,60	Brykov et al., 1979
<i>S. nudus</i>	ОП 2 000 200 1	0,05 0,25 0,10 0,60	Те же
<i>S. franciscanus</i>	ПП 1	0,41 0,55	Angerer et al., 1976
<i>S. droebachiensis</i>	ОП 10 ² —10 ³ 50—100 1	0,03 0,15 0,30 0,52	Vorob'ev, Kosjuk, 1974
Temnopleuroidea			
<i>Scaphechinus mirabilis</i>	ОП 2 000	0,02 0,15	Brykov et al., 1979

Таблица 20 (окончание)

Вид	Частота повторяе- мости фракций	Доля в геноме	Автор, год
Litechinus pictus	200	0,27	Angerer et al., 1976
	1	0,56	
	ПП	0,50	
	1	0,47	
Spatongoida			Brykov et al., 1979
Echinocardium corda- tum	ОП	0,03	
	2 000	0,24	
	200	0,18	
	1	0,55	
Тип Погонофоры Pogonophora			
Athecanephria			Петров и др., 1980
Siboglinum fiordicum	ОП	0,11	
	1 600	0,59	
	1	0,30	

Примечание. ОП — обращенные повторы, ПП — общее количество повторяющихся последовательностей.

1977] приведены параметры кинетики реассоциации ДНК растений семейства сложноцветных. Однако в этом случае реассоциация велась с использованием только длинных фрагментов, порядка 1,6 т. п. н. Как мы уже знаем, при такой длине фрагментов и при наличии короткопериодной интерсперсии в геноме доля повторяющихся фракций может быть сильно завышенной. Поэтому данные, полученные при использовании фрагментов более 0,4—0,5 т. п. н., не могут служить характеристикой структуры генома в принятом нами его определении.

Из 82 видов, перечисленных в табл. 19, девять относятся к грибам (грибы будем рассматривать вместе с растениями, хотя считается, что они составляют самостоятельное царство наряду с царством растений, царством животных и царством дробянок — прокариотических организмов), три — к водорослям, четыре — к голосеменным и 66 видов — к покрытосеменным. Наименьшим относительным содержанием повторов характеризуется геном грибов — от 2 до 30% и лишь у фикомицеса — 45%. Среднее значение для 43 видов класса двудольных — 62% с рангом от 30 до 90%, для 21 вида однодольных — 73% с рангом от 50 до 95%. Если сюда еще добавить долю повторов у четырех видов голосеменных, которая превышает 70%, то можно сделать вывод: изученные

виды высших растений характеризуются повышенным содержанием повторов в геноме. Особенно высоко оно у голосеменных и однодольных растений. Распределение последовательностей по частоте повторяемости установлено для очень малого числа видов, почти у всех этих видов имеется фракция сотенных повторов, фракция с повторяемостью тысячи и десятки тысяч раз и иногда фракция с повторяемостью 10—50 раз.

Приблизительно такое же число видов (около 80) изучено у беспозвоночных (табл. 20). Из них 10 видов простейших, 5 видов ракообразных, 39 видов насекомых, 10 видов моллюсков, 11 видов иглокожих и по одному—три вида некоторых других групп беспозвоночных. Наименьшее содержание повторов обнаружено у одноклеточных животных, главным образом у инфузорий, — 2—15%, несколько больше у амёбы и лейшмании. Среднее значение для простейших — 10%. По 50% повторов в среднем содержат моллюски и иглокожие. Очень высокое содержание повторов найдено у ракообразных (70% в среднем).

Насекомые характеризуются очень широким распределением по доле повторов в геноме. Среди них имеются виды с очень малым содержанием повторов, около 10%, такие, как некоторые двукрылые и перепончатокрылые, (пчелы), и виды с очень высоким содержанием повторов, более 70%, такие, как некоторые прямокрылые (саранчовые) и жесткокрылые (жуки). Среднее значение доли повторов в геномах 37 видов насекомых — 40%. Что касается отдельных фракций повторов у беспозвоночных, то можно отметить такую особенность, как отсутствие сотенных повторов у членистоногих [Voughn, 1974; Christie, Skinner, 1979] при наличии их у других беспозвоночных, а также широкое распространение редких повторов с частотой повторяемости менее 100.

Сопоставление данных табл. 19 и 20 с аналогичными данными для позвоночных позволяет заключить, что позвоночные (и хордовые в целом) не имеют каких-либо качественных и количественных отличий по структуре генома от растений и тем более от беспозвоночных. Так, по общему содержанию повторов в геноме ланцетник и птицы (20—25%) сходны с одноклеточными животными или грибами, рептилии и млекопитающие — с насекомыми (около 40% в среднем), рыбы и амфибии — с высшими растениями или ракообразными. По частоте повторяемости фракций ДНК можно найти аналогии между рыбами, амфибиями и млекопитающими, с одной стороны, и некоторыми насекомыми, покрытосеменными и т. д. — с другой.

2. Организация геномов грибов, растений и беспозвоночных животных

В этом разделе кратко рассмотрим известные данные о протяженности и взаимном расположении нуклеотидных последовательностей в геномах грибов, растений и беспозвоночных животных и сопоставим их с таковыми позвоночных. Сводка данных по молекулярной организации генома у видов, относящихся к этим группам эукариот, приведена в табл. 21 и 22 отдельно для растений и беспозвоночных.

Грибы и растения

Отдел слизевики *Mucomycota*. Оба изученных вида характеризуются преобладанием короткого периода чередования повторяющихся и уникальных последовательностей, несмотря на большие различия в размере генома.

Отдел грибы *Mycota*. Короткие последовательности в ДНК всех видов практически отсутствуют. Согласно расчетам, сделанным авторами, длина повторяющихся и уникальных последовательностей равняется у ахлии соответственно 27 и 135 т. п. н., у нейроспоры 10 и 73 т. п. н. и у фикомицеса 16 и 25 т. п. н. Размеры геномов этих грибов приблизительно в 100 раз меньше размера генома птиц, и, несмотря на это, мы отмечаем сходство в организации нуклеотидных последовательностей. Например, длина повторяющихся и уникальных последовательностей одного порядка в геномах ахлии и королевского альбатроса, нейроспоры и кайры. Однако для этих птиц мы выяснили, что длинные повторы состоят из блоков чередующихся между собой коротких повторов. Обработка S_1 -нуклеазой повторов ахлии и фикомицеса не выявила существенного количества коротких повторов, т. е. повторы в геномах этих видов действительно очень протяженные.

Отдел пиритовые водоросли *Pyrrhophyta*. Представители этого отдела являются весьма примитивными эукариотами. Многие свойства ядерной организации сближают их с прокариотами [Райков, 1978]. Тем не менее геном криптокодиниума содержит большое количество повторов и устроен по «Хепопус-типу».

Отдел эвгленовые водоросли *Euglenophyta*. Лишь треть генома составлена из последовательностей, чередующихся с коротким (менее 2 т. п. н.) периодом. Длина этих повторов 1 т. п. н. Большая часть генома составлена из повторов, протяженность которых 5 т. п. н. Следовательно, организация генома эвглены не соответствует ни «Хепопус-», ни «*Drosophila*-типу». Отмечается, что хромосомы эвглены постоянно конденсированы.

Таблица 21. Молекулярная организация генома грибов и растений

Вид	Общее содержание уникальных последовательностей в геноме, %	Доли коротких уникальных последовательностей, % фракции	Автор, год
Слизевики Mucormycota			
<i>Dictiostelium discoideum</i>	70	70	Firtel, Kindle, 1975
<i>Physarum polycephalum</i>	63	80	Hardman et al., 1980
Грибы Mycota			
<i>Achlya bisexualis</i>	82	3	Hudspeth et al., 1977
<i>Phycomyces blakesleeana</i>	52	—	Harshey et al., 1979
<i>Neurospora crassa</i>	90	—	Krumlauf, Marzluf, 1979
<i>Schizophyllum commune</i>	91	—	Dons, Wessels, 1980
<i>Aspergillus nidulans</i>	98	—	Timberlake, 1978
Пирофитовые водоросли Pyrophyta			
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	50	95	Hinnebush et al., 1980
Эвгленовые водоросли Euglenophyta			
<i>Euglena gracilis</i>	12	100	Rawson et al., 1979
Покрывосеменные Angiospermae			
<i>Matthiola incana</i>	31	65	Wenzel, Hemleben, 1979
<i>Gossypium hirsutum</i>	61	80	Walbot, Dure, 1976
<i>Pisum sativum</i>	30	100	Murrey et al., 1978
<i>Vicia faba</i>	20	65	Walbot, Goldberg, 1979
<i>Glycine max</i>	39	70	Goldberg, 1978
	43	65	Gurley et al., 1979
<i>Linum usitatissimum</i>	44	—	Cullis, 1981
<i>Vigna radiata</i>	65	40	Murrey et al., 1979
<i>Petroselinum sativum</i>	13	75	Kiper, Herzfeld, 1978
<i>Nicotiana tabacum</i>	41	80	Zimmerman, Goldberg, 1977
<i>Allium cepa</i>	6	60	Stack, Comings, 1979
<i>Triticum aestivum</i>	25	65	Flavell, Smith, 1976
<i>Secale cereale</i>	26	80	Smith, Flavell, 1977
<i>Pinnicetum americanum</i>	17	50	Wimpee, Rawson, 1979
<i>Zea mays</i>	35	50	Hake, Walbot, 1980
<i>Oryza sativum</i>	34	—	Gupta et al., 1978

Таблица 22. Организация генома беспозвоночных

Вид	Общее содержание уникальных последовательностей в геноме, %	Доля коротких уникальных последовательностей, % фракции	Автор, год
Простейшие Protozoa			
<i>Tetrahymena pyriformis</i>	90	10	Borhsenius et al., 1978
Кишечнополостные Coelenterata			
<i>Aurelia aurita</i>	36	80	Goldberg et al., 1975
Немертины Nemertina			
<i>Cerebratulus lacteus</i>	33	70	Те же
Круглые черви Nematelminthes			
<i>Ascaris suum</i>	90	15	Roth, 1979
<i>Caenorhabditis elegans</i>	80	14—19	Schachat et al., 1978
<i>Panagrellus silusiae</i>	61	—	Beauchamp et al., 1979
Членистоногие Arthropoda			
<i>Thermobia domestica</i>	33	70	French, Manning, 1980
<i>Limulus polyphemus</i>	58	70	Goldberg et al., 1975
<i>Gerion quinquedens</i>	35	70	Cristie, Skinner, 1979
<i>Gecarcinus lateralis</i>	50	80	Holland, Skinner, 1977
<i>Aeschna squamata</i>	63	30	Петров, Алешин, 1982
<i>Calopterix splendens</i>	65	30	Те же
<i>Bombyx mori</i>	55	75	Gage et al., 1976
<i>Antheraea pernyi</i>	35	70	Efstratiadis et al., 1976
<i>Musca domestica</i>	34	90	Crain et al., 1976b
<i>Sarcophaga bullata</i>	81	—	Samols, Swift, 1979
<i>Drosophila melanogaster</i>	70	—	Manning et al., 1975; Crain et al., 1976a
<i>Chironomus tentans</i>	90	—	Wells et al., 1976
<i>Apis mellifera</i>	92	—	Crain et al., 1976b
Моллюски Mollusca			
<i>Aplysia californica</i>	40	80	Angerer et al., 1975
<i>Crassostrea virginica</i>	38	75	Goldberg et al., 1975
<i>Spisula solidissima</i>	32	70	Те же
Иглокожие Echinodermata			
<i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	50	70	Graham et al., 1974

Таблица 22 (окончание)

Вид	Общее содержание уникальных последовательностей в геноме, %	Доля коротких уникальных последовательностей, % фракции	Автор, год
<i>S. intermedius</i>	60	70	Brykov et al., 1979
<i>S. nudus</i>	60	70	Те же
<i>S. droebachiensis</i>	52	70	Vorob'ev, Kosjuk, 1974
<i>Scaphechinus mirabilis</i>	46	50	Brykov et al., 1979
<i>Echinocardium cordatum</i>	55	10	Те же
<i>Asterias amurensis</i>	58	40	»
<i>Pisaster ochraceus</i>	55	80	Smith, Boal, 1978
<i>Dermasterias imbricata</i>	40	30	Smith et al., 1980
<i>Stichopus japonicus</i>	55	20	Brykov et al., 1979

Погонофоры *Pogonophora*

<i>Siboglinum fiordicum</i>	30	30	Петров и др., 1980
-----------------------------	----	----	--------------------

Отдел покрытосеменные *Angiospermae*. Почти у всех видов повторяющиеся последовательности составляют большую часть генома (60—90%). Как однодольные, так и двудольные растения, за исключением проса, риса, вигны и льна, характеризуются «Хепорус-типом» организации генома. Однако несомненно в геномах этих растений преобладает чередование повторов между собой с коротким периодом. Размер большей части повторов хлопчатника равен 1,2 т. п. н., уникальных последовательностей — 1,8 т. п. н., т. е. этот вид очень сходен по организации генома с эвгленой, а из позвоночных — с китайским хомячком *Cricetulus griseus* [MacLachlan et al., 1979]. Длина повторов в геноме проса 5 т. п. н., а уникальных последовательностей лишь 0,7—1,4 т. п. н. В геноме вигны уникальные последовательности составляют 65%, большая часть из которых (70%) имеет размер, превышающий 1—6 т. п. н., а в геномах риса и льна — превышающий 10 т. п. н. В ДНК гороха все уникальные последовательности короче 1 т. п. н., из них 75% имеют очень короткую длину, 0,15—0,30 т. п. н.; длина повторов 0,35 т. п. н. Отсюда следует, что геном гороха обладает очень коротким периодом чередования. Сверхдлинный период чередования, характерный для риса и льна, сходен с описанными нами для арктического суслика *Citellus parryi* [Гинатулин и др., 1980], морской черепахи и альбатроса [Гинатулин, Гинатулина, 1979а, б; Ginatulin et al., 1980].

Таким образом, у растений найден практически весь спектр вариантов организации генома, обнаруженный у позвоночных.

Беспозвоночные

Тип простейшие Protozoa. 15% генома тетрахимены характеризуются очень коротким периодом чередования, менее 0,6 т. п. н., остальные 85% — очень длинным периодом чередования. Как уже отмечалось, такая организация обнаружена в геномах некоторых видов птиц, арктического и длиннохвостого суслика.

Тип кишечнополостные Coelenterata. Представитель этого типа медуза *Aurelia aurita* имеет типичный «Хепорус-тип» организации генома.

Тип немертины Nemertini. Исследованный вид — церебратулюс также характеризуется «Хепорус-типом» организации генома.

Тип круглые черви Nemathelminthes. У всех изученных видов обнаружено преобладание в геноме длинного периода чередования последовательностей. В геноме *Ranagrellus*, более подробно изученного, чем остальные два вида, длина повторов более 10 т. п. н., еще больше длина уникальных последовательностей. Как по размеру, так и по характеру интерсперсии последовательностей геном этого червя сходен с геномом грибов.

Тип членистоногие Arthropoda. Этот тип самый обширный по числу видов среди эукариот. Четыре вида насекомых характеризуются умеренно длинным периодом чередования последовательностей («Drosophila-типом»), из них три вида принадлежат к отряду Diptera. К этому же отряду относится и комнатная муха *Musca domestica*, однако ее геном организован по «Хепорус-типу». Ксенопусный план строения генома обнаружен и у других видов — мечехвоста, краба (*Gerio* шелкопряда, бабочки, стрекоз и чешуйницы (*Thysanura*).

Тип моллюски Mollusca. У всех видов большая часть генома имеет короткий период чередования повторяющихся и уникальных последовательностей.

Тип иглокожие Echinodermata. Геном всех девяти видов организован по «Хепорус-типу».

Тип погонофоры Pogonophora. Треть генома *Siboglinum* состоит из коротких чередующихся последовательностей. Детали организации пока еще не изучены.

Краткий обзор по организации генома беспозвоночных показал, что среди беспозвоночных, так же, как и среди

растений, обнаруживается разнообразие молекулярной организации генома. Однако большинство изученных видов все же характеризуется «Хепорус-типом» организации генома. При этом весьма единообразны по устройству генома моллюски и иглокожие, небольшие различия наблюдаются лишь в количественном соотношении тех или иных последовательностей. Также единообразен план строения генома рассмотренных нематод: им свойствен длинный или сверхдлинный период чередования повторяющихся и уникальных последовательностей (десятки тысяч нуклеотидов). Членистоногие более гетерогенны в этом отношении: в этом типе обнаружены виды как с ксенопусной, так и дрозифильной организацией генома.

Таким образом, к настоящему времени становится ясно, что вместо единого плана строения генома, постулированного в первых работах, у эукариот *существует очень широкий спектр различных вариантов организации генома*. Это многообразие заключается не только в протяженности различных последовательностей, но и в относительном содержании в геноме. Однако «Хепорус-тип» организации последовательностей среди изученных видов эукариот все же преобладает, составляя, по нашей оценке, приблизительно 60%.

3. Многообразие вариантов молекулярной организации геномов эукариот

Последние обзоры по организации геномов эукариот, сделанные несколько лет назад, констатировали доминирование «Хепорус-типа» организации нуклеотидных последовательностей [Davidson et al., 1975; Galau et al., 1976]. Приведенная здесь очень краткая характеристика основных параметров геномной организации 57 видов беспозвоночных и растений и достаточно подробная характеристика геномов 55 видов хордовых, наоборот, продемонстрировали отсутствие доминирования какого-либо единого плана строения генетического материала эукариот. Разные типы организации встречаются в геномах представителей почти всех крупных таксонов эукариот. Наиболее изменчивыми в этом отношении являются типы членистоногих Arthropoda и хордовых Chordata. Однако есть основания предполагать, что такой вывод сделан в связи с большим числом изученных видов в этих таксонах. Одинаковое строение геномов отмечается у представителей очень отдаленных филогенетически групп. Так, молекулярная организация по типу сверхдлинной интерсперсии последовательностей ДНК (десятки тысяч пар нуклеотидов)

обнаружена у грибов *Achlya*, *Phycomyces* и *Neurospora*, у нематоды *Panagrellus*, у птиц — альбатроса и кайры, у хомяков *Mesocricetus auratus* и *Tscherskia triton*; по типу умеренно длинной интерсперсии (3—15 т. п. н.) — у двукрылых *Drosophila*, *Chironomus*, *Sarcophaga*, у нематод *Caenorhabditis* и, возможно, аскариды *Ascaris*, у курицы *Gallus*, у некоторых сусликов *Citellus*; по типу сверхкороткой интерсперсии (менее 0,5 т. п. н.) в сочетании со сверхдлинной — у некоторых позвоночных, тетрахимены, гороха *Pisum*. Наконец, короткий период описан для *Xenopus*, человека *Homo*, даурского и обыкновенного хомяков *Cricetus cricetus* и *Cricetulus barabensis*, морских ежей, насекомых, высших растений, слизевиков.

В целом же, анализируя данные по организации последовательностей в ДНК более 100 изученных к настоящему времени видов эукариот, мы обнаруживаем значительное разнообразие вариантов организации последовательностей ДНК — от чистого «ксенопусного» к «дрозофильному» и далее к «альбатросному». При этом можно найти целый ряд переходных форм от одного типа к другому. Длина чередующихся повторов варьирует от минимальной, уже способной связываться с ГАП (находясь в реассоциировавшем состоянии), до 0,12—0,17 т. п. н. (кайра *Ugia*, змея *Elaphe*, рис *Oryza*), 0,3—0,4 т. п. н. (альбатросы, ксенопус и множество других видов), 0,6—0,8 т. п. н. (злаки), 1,2 т. п. н. (хлопчатник, эвглена, китайский хомячок), 3—6 т. п. н. (дрозофила, хирономус, некоторые суслики, просо) и более 10 т. п. н. (грибы, нематоды). Длина уникальных последовательностей варьирует в тех же пределах: 0,2—1,0 т. п. н. (тетрахимена, горох), 0,8—3 т. п. н. (большинство видов), 3—10 т. п. н. (золотистый хомячок и др.) и более 10 т. п. н. (грибы, нематоды, множество других видов, в том числе птицы, рептилии, млекопитающие). Рассматриваемая изменчивость касается не только размера чередующихся последовательностей, но и их доли в геноме. Некоторые интересные, на наш взгляд, варианты интерсперсии последовательностей, выявленные у эукариот, приведены в табл. 23. В геномах эукариот одновременно могут сосуществовать многие из этих вариантов, но в разных соотношениях у разных видов. Например, в геноме *Xenopus laevis* половина последовательностей организована по второму варианту (табл. 23), где повторы длиной 0,3 т. п. н. соседствуют с уникальными последовательностями протяженностью 0,8—1 т. п. н., а другая половина состоит из последовательностей, организованных по третьему (30%) и седьмому (20%) вариантам [Davidson

Таблица 23. Некоторые варианты организации нуклеотидных последовательностей в геномах эукариот

№ п. п.	Вид	Участок ДНК с чередующимися последовательностями			Автор, год
		Повторяющиеся (т. п. н.)	Уникальные (т. п. н.)	Процент генома	
1	Альбатрос	0,3	1—2	18	Гинатулин, Гинатулина, 1979a; Ginatulin et al., 1980
		—	>10	80	Те же
2	Лягушка	0,3	0,8—1,0	50	Davidson et al., 1973
3	Крыса	0,3	2,5	70	Pearson et al., 1978
4	Хлопчатник	1,2	1,8	60	Walbot, Dure, 1976
5	Просо	5,0	0,8—1,0	50	Wimpee, Rawson, 1979
6	Дрозофила	5,6	>13	90	Manning et al., 1975
7	Плесень	>10	>10	95	Hudspeth et al., 1977

Примечание. Виды расположены в порядке увеличения длины повторов.

et al., 1973]. В геноме *Citellus fulvus* имеются второй (15—20%), шестой (более 40%) и седьмой варианты. Таким образом, ясно, что отнесение организации генома какого-либо вида к тому или иному типу в ряде случаев достаточно условно.

Изученные виды эукариот различаются по размерам геномов более чем в 100 раз (и даже в тысячи раз, если сравнивать грибы с хвостатыми амфибиями). Повторяющиеся последовательности в геномах курицы, дрозофилы и плесени *Achlya* составляют менее 20% генома, тогда как в абсолютных значениях (в пикограммах на ядро) количество их в геноме курицы в 4 раза больше всего генома дрозофилы и в 10 раз больше генома плесени. Все эти виды характеризуются длинным периодом чередования последовательностей. Аналогичные рассуждения относительно любого другого набора видов позволяют предположить, что для эукариот в большинстве случаев не важно абсолютное количество тех или иных групп последовательностей, а важно, чтобы они имелись в геноме в определенной пропорции, колеблющейся для каждого отдельно взятого вида в небольших пределах, а между видами (очень часто) в больших пределах.

§ 4. Эволюция размеров генома

В главах, посвященных отдельным классам хордовых, кроме обсуждения структуры и организации генома, мы останавливались на особенностях клеточного содержания ДНК, говорили о минимальном и максимальном размере генома, среднем значении его для класса или подкласса, о некоторых интересных закономерностях эволюции значения 2С внутри этих групп.

В этом параграфе мы ограничимся обсуждением общих проблем, связанных с эволюцией размера генома позвоночных, а также тенденций общего порядка. Более подробные сведения о вариациях геномного размера, возможных механизмах увеличения и уменьшения количества клеточной ДНК можно найти в обзорах Хайнгарднера [Hinegardner, 1976b], Прайса [Price, 1976], Шарского [Szarski, 1976] и др.

Ряд тенденций в изменениях количества клеточной ДНК был усмотрен после первых же работ, посвященных этой теме. Так, Мирски и Рис [Mirsky, Ris, 1951] заметили, что: 1) с повышением уровня организации у беспозвоночных наблюдается увеличение количества ДНК; 2) родственные виды, например члены одного семейства, содержат примерно одинаковое количество ДНК; 3) эволюция наземных позвоночных сопровождается уменьшением количества ДНК.

Выводы этих авторов, сделанные на основании изучения лишь 60 видов, в большинстве случаев действительны и в настоящее время, когда число видов с известным размером генома только у позвоночных перевалило за тысячу. Следует, однако, отметить, что наряду с семействами, где размер генома действительно поддерживается константным (сем. *Vespertilionidae*, отряд рукокрылые; сем. *Salmonidae*, отряд лососевые и др.), сейчас известны семейства (и даже роды) с широкой вариацией этой величины (род *Plethodon*, отряд хвостатые амфибии: 20—70 пг; род *Thomomys*, отряд грызуны: 4—12 пг и др.).

Обсуждая вопрос об эволюции размера генома у высших организмов, Хайнгарднер делает несколько интересных выводов [Hinegardner, 1976b]. Приведем их здесь с небольшими комментариями.

1. Распределение ДНК внутри больших групп, таких, как тип или класс, обычно асимметричное, число видов с меньшим геномом больше.

Это действительно и сейчас для рыб (см. рис. 11), но не бесспорно для других таксонов (см. рис. 13, 15, 19, 30).

2. Содержание ДНК может коррелировать, а может и не коррелировать с числом хромосом. Первое безусловно верно для видов, образующих серию с кратным увеличением $2n$ — полиплоидные ряды.

Однако для других групп видов корреляции скорее нет. Для рыб это видно из рис. 12, для млекопитающих — из рис. 34. Более того, мы нашли, что такой корреляции нет и для размера отдельной кинетической фракции генома млекопитающих (см. рис. 35).

3. У высших эукариот редко встречаются виды с размером генома менее 0,4 пг. Можно предположить, что в клетке должно существовать какое-то минимальное количество ДНК, близкое к этому.

Подсчитано, что количество ДНК в составе структурных генов составляет 3—5% генома млекопитающих. Если средний размер генома млекопитающих равен 7,8 пг, то количество ДНК в генах составляет 0,2—0,4 пг (0,1—0,2 на 1С), что весьма близко к минимальной величине, приведенной Хайнгарднером.

4. Размер тела взрослого организма положительно коррелирует с содержанием ДНК у моллюсков, видов рода *Drosophila* и у полиплоидных видов растений.

Это нельзя считать правилом, по крайней мере для позвоночных. У птиц (страус и голубь) одинаковый размер генома, но очень различающиеся размеры тела. Обыкновенный хомяк *Cricetus* значительно крупнее, чем золотистый хомячок *Mesocricetus*, но имеет в 2 раза меньший размер генома.

5. Во многих группах организмов содержание ДНК коррелирует со степенью специализации. Члены группы с низким содержанием ДНК, как правило, более специализированные. Хайнгарднер приводит убедительные доказательства правильности этого вывода для рыб. Более генерализованные формы костистых рыб имеют больше ДНК. Например, лососевые рыбы имеют много общих черт с другими рыбами, размер генома у них значительно больший, чем у таких специализированных видов, как камбала или морской конек (в 4—5 раз) [Hinegardner, Rosen, 1972].

Птицы и летучие мыши, специализировавшиеся к полету, содержат в 1,2—2 раза меньше ДНК, чем представители рептилий (образующих вместе с птицами надкласс *Sauropsida*) или большинство млекопитающих. Это правило подтверждается также для нескольких групп растений, насекомых, моллюсков, иглокожих, амфибий и др.

6. Животные и растения, считающиеся примитивными или предковыми и имеющие низкую скорость эволюции, содержат

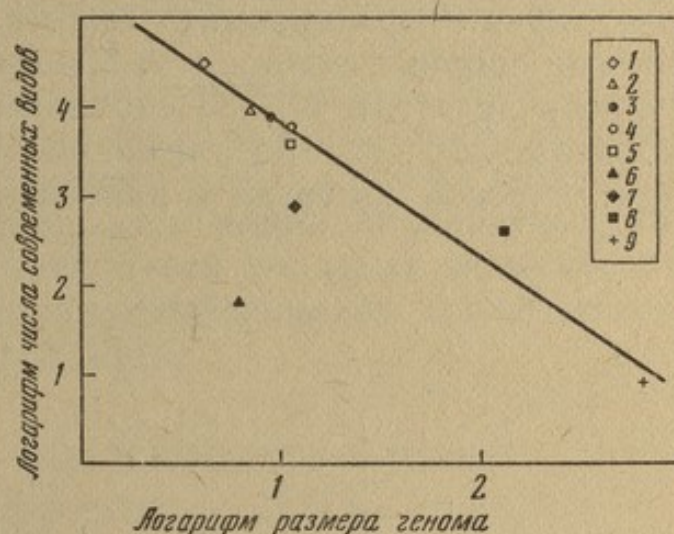
больше, а иногда значительно больше ДНК, чем в среднем соответствующий таксон. Сравним двоякодышащих (160—180 пг) и кистеперых (14 пг) рыб, бесхвостых амфибий (2—14 пг) с хвостатыми (20—200 пг), псилофитовых и папоротникообразных (от 20 до более чем 200 пг) с цветковыми (менее 20 пг), которые относятся как раз к таким группам. Организмы же, относящиеся к древней группе, но высокоспециализированные, такие, как круглоротые, имеют низкое содержание ДНК (в среднем 3 пг).

7. Среднее содержание ДНК в таксономической группе, такой, как класс, показывает обратную корреляцию с числом видов в этой группе. Это очень хорошо продемонстрировано для позвоночных.

Бахманн и соавторы [Bachmann et al., 1972] в 1972 г. построили зависимость между логарифмом размера генома и числом видов в различных классах позвоночных и обнаружили, что, чем больше размер генома, тем меньше число видов в классе. За прошедшие 10 лет число видов с известным содержанием ДНК значительно возросло. Попробуем построить аналогичную зависимость с учетом новых данных и добавим сюда данные для круглоротых. Как видно из рис. 36, количество ДНК очень хорошо коррелирует с числом видов.

Рис. 36. Корреляция между логарифмом числа современных видов и логарифмом размера генома в различных группах позвоночных

1 — костистые рыбы, Teleostei; 2 — птицы; 3 — рептилии; 4 — млекопитающие; 5 — бесхвостые амфибии, Anura; 6 — круглоротые, Cyclostomata; 7 — хрящевые рыбы, Chondrichthyes; 8 — хвостатые амфибии, Urodela; 9 — двоякодышащие рыбы, Dipnoi



лирует с числом видов. Исключение составляют круглоротые. Анализируя эту зависимость, можно сделать вывод, что в эволюции позвоночных видообразование сопровождается уменьшением количества клеточной ДНК. По мнению Оно [1973], у предков двоякодышащих рыб и хвостатых амфибий в результате tandemных дупликаций размер генома превысил некий пороговый уровень и геном по этой причине оказался «замороженным», несмотря на огромную генетическую избыточность. В силу этого они в процессе эволюции

не смогли уменьшить геном и оказались в эволюционном тупике. Отклонение от корреляционной прямой круглоротых можно объяснить узкой специализацией сохранившихся видов. Однако не надо забывать, что большинство современных классов позвоночных испытывают расцвет в кайнозое, тогда как для бесчелюстных, куда относятся круглоротые, лучшие времена прошли сотни миллионов лет назад. Если предположить, что круглоротые сохранили размер генома своих предков, и учесть число вымерших видов бесчелюстных, то соответствующее значение для них вполне уложится на прямую. То же можно сказать и о хрящевых рыбах, отклоняющихся от прямой, но в значительно меньшей степени, чем круглоротые.

8. Содержание ДНК положительно коррелирует с клеточным и ядерным объемом: чем больше ДНК, тем больше клетка и ядро. Эта корреляция достаточно хороша для того, чтобы рассчитывать размер генома по измеренному размеру клеток или ядер.

Зная лишь один параметр, такой, как, например, размер генома, нельзя сказать, насколько виды близкородственны или какова скорость эволюции видов. Однако знание этого параметра в совокупности с другими параметрами генома, такими, как молекулярная структура и организация, надмолекулярная организация генома, может помочь решить многие спорные вопросы эволюции групп. По крайней мере наши результаты по исследованию генома сусликов хорошо коррелируют с построениями, сделанными на основе методов классической зоологии и палеонтологии (см. главу 6).

ГЕНОМ ПОЗВОНОЧНЫХ: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АСПЕКТ

В этой главе рассмотрим полученные к настоящему времени данные по молекулярной организации геномов эукариот с другой стороны — структурно-функциональной. Этот аспект подсказывается самим ходом исследований. Очень многие представители эукариот были изучены не в связи с эволюционными взаимоотношениями их с другими видами и не в связи с непонятным систематическим положением их, а просто как наиболее доступные лабораторные виды или виды, имеющие важное хозяйственное значение. Обычно эти виды хорошо изучены с морфологической, кариологической, биохимической и со множества других сторон, знание которых помогает понять структуру, взаимосвязь и назначение тех или иных элементов и систем генетического аппарата клеток.

Здесь мы попытаемся охарактеризовать каждую отдельную фракцию ДНК позвоночных, их взаимоотношение между собой и по возможности сопоставить с другими характеристиками генома, молекулярными и надмолекулярными. Рассмотрим также кратко имеющиеся сведения относительно функциональной значимости повторяющихся и неповторяющихся последовательностей ДНК.

§ 1. Организация последовательностей в отдельных фракциях ДНК

Изложенный материал по организации генома получен главным образом методом реассоциации ДНК с анализом продуктов реассоциации с помощью S_1 -нуклеазного гидролиза. Недостатком метода является низкая чувствительность его для выяснения организации отдельных фракций ДНК, часто составляющих лишь несколько процентов генома, но этот метод имеет преимущество перед другими в том, что он позволяет охарактеризовать структуру и организацию генома в целом. Для выяснения же устройства отдельных последовательностей ДНК успешно применяются методы

рестрикционного анализа. Сочетанием этих методов удается получить достаточно полные сведения об организации последовательностей в геноме. Пока что такой синтез применяется в очень ограниченном числе работ, посвященных преимущественно анализу генома приматов. S_1 -нуклеазный тест, предложенный группой Бриттена—Дэвидсона [Davidson, Britten, 1973 и др.], не всегда позволяет выяснить истинную протяженность повторяющихся последовательностей и иногда противоречит данным кинетики реассоциации фрагментов различной длины. Противоречие между данными кинетики и S_1 -нуклеазного теста было обнаружено нами при исследовании альбатроса, морской черепахи, сусликов и др., когда мы выявляли большое количество коротких дуплексов при сверхдлинной организации уникальных и повторяющихся последовательностей.

Несмотря на указанные недостатки, этими методами охарактеризовано большое число видов и можно уже сделать некоторые полезные обобщения и выводы по организации отдельных фракций ДНК.

1. Очень быстро реассоциирующая фракция

Обращенные повторы

Размеры взаимокплементарных последовательностей, расположенных на одной нити ДНК и образующих после реассоциации спаренные стволы шпилек, варьируют в геномах позвоночных от 0,15 до 6 т. п. н. [Wilson, Thomas, 1974]. У вьюна средняя протяженность стволов шпилек составляет 0,15 т. п. н. [Куприянова и др., 1976], у симы — 0,5 т. п. н. [Гинатулин, Гинатулина, 1979б], у альбатроса — 0,7 т. п. н. [Гинатулин, 1981], у человека по одним данным — 0,3 т. п. н. [Deininger, Schmid, 1976], по другим — 0,19 т. п. н. [Dott et al., 1976], у мыши — 0,13 т. п. н. [Biezunski, 1981b], или 1 т. п. н. [Wilson, Thomas, 1974; Cech, Hearst, 1975], у крысы — 0,3 т. п. н. (40%) и более 6 т. п. н. (60%) [Wilkes et al., 1978], у китайского хомячка — 0,9 т. п. н. [Bell, Hardman, 1977]. Относительное содержание обращенных повторов в геномах позвоночных составляет в большинстве случаев 1—5%, изредка доходя до 15%. Количество их на гаплоидный геном колеблется от 10^4 до 10^6 : у вьюна — $5 \cdot 10^5$ [Куприянова и др., 1976], у шпорцевой лягушки — 10^5 . [Perlman et al., 1976], у симы — $9 \cdot 10^4$ (2С) [Гинатулин, Гинатулина, 1979б], у альбатроса — $3 \cdot 10^4$ [Гинатулин, 1981], у мыши — от $4 \cdot 10^4$ [Cech, Hearst, 1975] до $3 \cdot 10^5$ [Biezunski, 1981b],

у китайского хомячка — $2,1 \cdot 10^4$ [Bell, Hardman, 1977]. В геноме человека по данным электронной микроскопии количество обращенных повторов равно $1,2 \cdot 10^5$ [Deininger, Schmid, 1975], по данным хроматографии на ГАП — $2 \cdot 10^6$ [Dott et al., 1976]. Для сравнения укажем, что в геноме дрозофилы количество палиндромов составляет $3 \cdot 10^3$, их средняя длина 1,5—5 т. п. н. [Schmid et al., 1975], по другим данным длина в среднем 0,1—0,15 т. п. н., количество $3 \cdot 10^4$ [Biezunski, 1981a]. У нематоды *Panagrellus* эти значения равны $1,8 \cdot 10^4$ и 0,19 т. п. н. [Beauchamp et al., 1979], у шелкопряда *Bombyx mori* — $4 \cdot 10^4$ и 0,5 т. п. н. [Gage et al., 1976].

Распределение обращенных повторов среди других типов последовательностей в геномах позвоночных сильно различается. У симы и вьюна, представителей класса костных рыб, по данным кинетики реассоциации длинных фрагментов, обращенные повторы встречаются в 50% фрагментов длиной 13—20 т. п. н., т. е. расположены более или менее равномерно по хромосомам. Так же равномерно располагаются обращенные повторы в хромосомах амфибий [Perlman et al., 1976] и человека [Schmid, Deininger, 1975; Deininger, Schmid, 1976]. Это было подтверждено также результатами гибридизации обращенных повторов с метафазными хромосомами *in situ* [Dott et al., 1976]. В настоящее время отсутствуют данные по детальному изучению обращенных повторов в геномах *Sauropsida*. Однако из результатов анализа кинетики реассоциации фрагментов ДНК разной длины ясно, что если в ДНК этих позвоночных количество шпилечных структур приблизительно такое же, как и в ДНК других позвоночных, то они должны быть сгруппированы в кластеры (блоки). В частности, по нашим расчетам, число обращенных повторов в геноме королевского альбатроса приблизительно равно $3 \cdot 10^4$, распределены же эти структуры менее чем в 10% фрагментов длиной 6 т. п. н. В геноме голубя и курицы обращенные повторы также расположены кластерами [Arthur, Straus, 1978; Тарантул и др., 1979]. По данным Вильсона и Томаса [Wilson, Thomas, 1974], шпильки рассредоточены в 70—80% фрагментов ДНК длиной 10 т. п. н. у человека и тритона *Triturus* и лишь в 15—20% таких же фрагментов ДНК у мыши и дрозофилы, т. е. у двух последних видов одни фрагменты могут содержать по несколько шпилек, другие (почти 80% всех фрагментов длиной 10 т. п. н.) — ни одной. Кластерное расположение шпилек у дрозофилы и мыши позже было подтверждено Биезунским [Biezunski, 1981a, b]. Обращенные повторы в геноме *S. raggyi* большей частью

являются очень короткими — 0,07—0,20 т. п. н., хотя имеются и более протяженные последовательности. Среднее значение длины всех шпилек, по данным гель-фильтрации, равно 0,2 т. п. н. Доля S_1 -устойчивых дуплексов при $C_0t < 10^{-4}$ составляет 14,3% (см. главу 6). Следовательно, количество обращенных повторов в геноме *S. parvulus* равно $1,1 \cdot 10^6$ ($0,143 \cdot 3,2 \cdot 10^9 / 2 \cdot 200$, где $3,2 \cdot 10^9$ — число пар нуклеотидов в гаплоидном геноме). Такое огромное число шпилек распределяется лишь среди 20% реассоциировавших фрагментов длиной 10 т. п. н., т. е. в геноме суслика, так же как и мыши, в отличие от генома человека обращенные повторы очень облочены. Таким образом, можно отметить, что обращенные повторы распределены в большинстве случаев точно таким же способом, как и остальные повторы в геноме каждого конкретного вида. Если повторы короткие и разбросаны по геному, то шпильки также рассеяны в геноме (человек, сима, *Xenopus*). Если же повторы сблочены, то и шпильки сблочены (суслики, альбатрос, мышь, дрозофила).

Последовательности ДНК, прилегающие к обращенным повторам, в геноме симы представлены всеми типами последовательностей, различающимися по степени повторяемости (скорости реассоциации) (см. главу 2). Аналогично распределены обращенные повторы среди других последовательностей в геноме человека [Schmid, Deininger, 1975], *Xenopus* [Perlman et al., 1976]. В геноме выюна с обращенными повторами соседствуют в основном быстрые и промежуточные (в принятой здесь терминологии) повторы [Куприянова и др., 1976]. Преимущественная локализация обращенных повторов по соседству с повторами иного типа (особенно быстрыми, имеющими 10^4 — 10^5 копий) обнаруживается в геномах сусликов и крысвидного хомячка, а также некоторых птиц.

Высокоповторяющиеся последовательности, или сателлитоподобная ДНК

Второй группой последовательностей, входящих в состав очень быстро реассоциирующей фракции, являются высокоповторяющиеся последовательности, имеющие около или более 10^6 копий в геноме. Типичным представителем высокоповторяющихся последовательностей является сателлитная ДНК мыши *Mus musculus* — семейство tandemно расположенных коротких повторяющихся последовательностей, вследствие чего возникло второе название высокоповторяющихся последовательностей — сателлитоподобная ДНК. Методом реассоциации ДНК было показано, что длина эле-

ментарного звена повторяемости сателлитной ДНК мыши равна 250—300 пар нуклеотидов [Waring, Britten, 1976]. Такая же величина была получена при анализе сателлита рестрикционными эндонуклеазами — 220—250 пар нуклеотидов [Southern, 1975]. Кроме фрагментов длиной 220—250 пар нуклеотидов рестриктазы, выщепляли из сателлитной ДНК фрагменты меньшей (80—120 пар нуклеотидов) и большей длины, вплоть до 6 т. п. н., причем размеры всегда были кратными 240. Однако химический анализ дает основание считать, что эти единицы, в свою очередь, состоят из большого количества субъединиц меньшего размера, порядка девяти пар нуклеотидов [Walker, 1971a; Biro et al., 1975]. Кинетический анализ изолированной сателлитной ДНК мыши и кенгуровой крысы *Dipodomys ordii* показал, что эта ДНК реассоциируют в интервале C_0t 10^{-4} — 10^{-2} и состоят из двух компонентов: с кинетической сложностью 130 и 1250 пар нуклеотидов (*Mus musculus*) и 56 и 240 нуклеотидов (*Dipodomys ordii*) (по данным химического анализа — шесть нуклеотидов). Следовательно, высокоповторяющаяся сателлитная ДНК, по крайней мере у некоторых грызунов, представлена тандемно повторяющимися блоками последовательностей кратной длины [Marx, Hearst, 1975]. Повторяющаяся единица сателлитной ДНК мартышки *Cercopithecus aethiops* длиной 172 пары оснований повторяется 7 млн. раз [Singer, 1979]. В отличие от сателлитной ДНК грызунов все повторяющиеся единицы идентичны и не состоят из субъединиц меньшего размера [Rosenberg et al., 1978]. (Более подробно см.: [Беридзе, 1982]).

Исследуя кинетику реассоциации ДНК позвоночных в интервале C_0t 10^{-5} — 10^{-2} , нам не удалось выявить скольконибудь значительное количество высокоповторяющихся последовательностей, реассоциирующих по второму порядку, таких, как, например, сателлитная ДНК мыши, даже если использовались препараты ДНК, обогащенные повторами. Эпплен и соавторы [Erpley et al., 1979] получали кинетику реассоциации ДНК пресмыкающихся начиная с C_0t 10^{-4} , но признаков существования сателлитоподобной ДНК не обнаружили. Лишь в геноме юнко (*Junco hyemalis*, Aves) такая фракция четко выделяется [Shield, Straus, 1975].

Роль обращенных повторов, например, в процессе репликации и транскрипции неоднократно рассматривалась на примерах некоторых умозрительных моделей: в терминации транскрипции [Wallase, Kass, 1976], в организации третичной структуры ДНК и тем самым в функционировании геномов [Лим, Мазанов, 1976]. Предполагалось также, что обращенные повторы участвуют в процессах перемещения участков ДНК в соматических клетках [Perlman et al., 1976]. Последнее предположение рассматривается в связи с обнаружением у бактерий встраивающихся (инсерционных) последовательностей (IS-факторы), которые производят интеграцию в бактериальную хромосому полового фактора, содержат в своем составе обращенные повторы и могут перемещаться, включаясь в различные гены и инактивируя их. Такие же перемещающиеся элементы обнаружены в генетических исследованиях на кукурузе и дрозофиле. О том, что обращенные повторы связаны с перемещающимися элементами, Перлман и соавторы [Perlman et al., 1976] судят на основании случайного распределения их среди других последовательностей ДНК *Xenopus laevis*, поскольку как в составе обращенных повторов, так и в составе прилегающих к ним участков обнаружены все известные фракции последовательностей. По мнению авторов, такое распределение обращенных повторов в ДНК отражает различия их локализации в разных клетках, нефиксированность расположения в геноме и, следовательно, возможность свободного перемещения их из одного локуса в другой. В связи с открытием разорванных генов высказывается также предположение, что обращенные повторы могут отвечать за узнавание и соединение друг с другом транскриптов с разных частей гена для правильной их сшивки (сплайсинга) и образования зрелых молекул мРНК. По нашим данным, в геномах симы и морской черепахи в составе прилегающих к обращенным повторам участков имеются и повторяющиеся и уникальные последовательности. Однако если в геноме симы значительная часть таких последовательностей группируется вокруг палиндромов, то в геноме морской черепахи — очень маленькая их часть. В геноме же арктического суслика обращенные повторы граничат с быстрыми повторами и с короткими уникальными последовательностями. Маловероятно, чтобы эти три вида позвоночных требовали в процессе жизнедеятельности разной степени участия обращенных повторов в контроле транскрипции и перемещения генов.

Что касается сателлитоподобных ДНК, то их преимущественная локализация в прицентромерных гетерохроматических районах хромосом [Pardue, Gall, 1970; Jones, 1970] и нетранскрибируемость [Flamm et al., 1967] позволили предположить, что они каким-то образом участвуют в процессах конъюгации и расхождения хромосом [Walker, 1971a, b]. Существует также указание на то, что изменение количества сателлитной ДНК в геномах близких видов насекомых и количества гетерохроматина в хромосомах приводит к изменению частоты кроссинговера [Miklos, Nankivell, 1976]. Предполагается также, что сателлитоподобные ДНК могут играть решающую роль в пространственной ориентации интерфазной хромосомы, обеспечивая конъюгацию определенных участков хромосом или их связь с ядерной оболочкой [Steffensen et al., 1974; Mayfield, Ellison, 1975].

Цитированные работы носят отрывочный характер; пока еще отсутствуют экспериментальные данные, которые могли бы достаточно однозначно выявить конкретные функции и сателлитной ДНК, и обращенных повторов.

Недавно при изучении обращенных повторов ДНК китайского хомячка (культура клеток ВНК-21) было выявлено, что распределение их вдоль цепи ДНК очень упорядочено. Длина непалиндромных вставок между ними варьирует также не случайно, а с некоторой периодичностью или арифметической серией размеров [Hardman et al., 1979]. Аналогичная периодичность была обнаружена также, как уже было сказано, в организации сателлитной ДНК. Сателлитной ДНК в геноме китайского хомячка не было найдено. Авторы предполагают, в частности, что периодическая организация обращенных повторов в ДНК хомячка свидетельствует о том, что районы ДНК, из которых происходят обращенные повторы, по характеру должны быть очень сходны с сателлитными последовательностями. Если это так, то обращенные повторы, подобно сателлитным ДНК, могут нести структурную функцию [Hardman et al., 1979]. Эта предполагаемая связь между обращенными повторами и сателлитными ДНК (предполагается, по-видимому, функциональная взаимозаменяемость их у разных видов) только лишь на основании периодичности их организации выглядит не очень убедительной. Однако и некоторые наши данные также могут говорить в пользу такой взаимозаменяемости. Так, хромосомы крысвидного хомячка *Tscherskia triton* содержат крупные блоки прицентромерного гетерохроматина [Борисов, 1978; Борисов, Кораблев, 1978; Kato, 1979]. Нами было показано, что ДНК этого вида значительно обогащена очень быстро реассоции-

рующими повторами по сравнению с ДНК родственного вида *Cricetulus barabensis*, хромосомы которого содержат очень мало гетерохроматина [Гинатулин и др., 1975; Гинатулин и др., 1979; Ginatulina et al., 1980]. Мы ожидали, что ДНК *T. triton* по аналогии с ДНК *Mus musculus* должна включать повышенное количество высокоповторяющихся, сателлитоподобных последовательностей. Анализ же кинетики реассоциации ДНК двух хомячков при очень низких значениях C_0t , вплоть до $C_0t\ 5 \cdot 10^{-5}$, не позволил обнаружить сателлитоподобную фракцию; разница же в доле очень быстро реассоциирующей фракции ДНК этих видов (на 10%) сохранялась и при этих очень низких значениях C_0t . Следовательно, в ДНК крысвидного и даурского хомячков, так же как и китайского хомячка [Hardman et al., 1979], нет сколько-нибудь заметного количества высокоповторяющихся последовательностей. В то же время различия в количестве гетерохроматина коррелируют с различиями в содержании обращенных повторов. Возможно, что сателлитоподобная ДНК *T. triton* составлена из тандемно расположенных взаимокплементарных последовательностей, т. е. субъединицей этой ДНК является палиндром.

Другой пример. Для сусликов рода *Citellus* получена прямая корреляция между содержанием очень быстрых и быстрых повторов и количеством С-окрашенного гетерохроматина [Ляпунова и др., 1978; Lyapunova et al., 1980b] (см. также главу 6). Исходя из того, что реассоциировавшие сателлитоподобные ДНК после обработки S_1 -нуклеазой образуют длинные дуплексы, элюирующиеся в исключенном объеме колонки с биогелем [Galau et al., 1976], мы предположили, что количество длинных дуплексов в геномах *Citellus* будет коррелировать с долей прицентромерного С-гетерохроматина. Однако у *C. paraguai*, хромосомы которого содержат промежуточное количество С-гетерохроматина (26%, ровно столько же, сколько в хромосомах мыши), длинные дуплексы составляют минимальное среди всех сусликов количество как в процентном отношении, так и в абсолютных значениях (в пг). Корреляция длинных дуплексов всех сусликов и С-гетерохроматина слаба. В то же время в геноме *C. paraguai* обнаружено самое большое среди всех видов сусликов количество очень коротких повторов, длиной 120 нуклеотидов. Сумма длинных и коротких дуплексов у всех видов сусликов очень хорошо коррелирует с процентом С-гетерохроматина (коэффициент корреляции равен 0,98 при уровне значимости 0,95). В то же время у *C. paraguai* короткие дуплексы лишь на четверть (более 2%) реассоциируют в пределах 10^{-4} —

10^{-2} , а остальные $3/4$ их являются обращенными повторами. Можно предположить, что сателлитоподобная ДНК *S. раггуи* состоит из тандемно расположенных палиндромов, часть из которых после реассоциации имеет петли, чувствительные к действию нуклеазы. Эти петли достаточно большие, так как гидролизуются и в мягких и в жестких условиях в одинаковой степени. Возможно, что эти петли являются чередующимися с обращенными повторами высокоповторяющимися последовательностями той же длины, другими словами, вполне вероятно, что сателлитоподобная ДНК *S. раггуи* организована, как и сателлитная ДНК мыши, в виде пермутированных повторов (см. рис. 4), большая часть из которых, однако, являются взаимокомплементарными последовательностями. В сателлитной ДНК мыши периодичность кратна 120 и 240 нуклеотидам [Southern, 1975], короткие повторы *S. раггуи* также имеют длину 120 нуклеотидов, а у других сусликов наблюдаются нечеткие пики около 300 нуклеотидов, являющиеся, возможно, усреднением кратных 120 нуклеотидам величин — 240 и 360 нуклеотидов.

2. Быстро реассоциирующая фракция

Быстрая фракция в количестве 5—30% обнаруживается на кривых кинетики реассоциации коротких фрагментов ДНК рыб [Куприянова, Тимофеева, 1973; Kuprijanova, Timofeeva, 1974; Ginatulin et al., 1980; Hanham, Smith, 1980], амфибий [Davidson et al., 1973] и млекопитающих [Britten, Smith, 1970; Schmid, Deininger, 1975; Вальехо-Роман и др., 1975; Гинатулин, Гинатулина, 1979а; Ginatulina et al., 1980]. На кривых реассоциации тотальной ДНК пресмыкающихся и птиц эта фракция часто не выявляется [Arthur, Straus, 1978; Epplen et al., 1978, 1979; Гинатулин, Гинатулина, 1979а; Ginatulin et al., 1980]. Однако во фракции, обогащенной повторами, иногда удается обнаружить ее (2% в геноме королевского альбатроса, см. главу 5). Эта фракция в большинстве случаев контактирует с обращенными повторами. Это показано для выюна [Куприянова и др., 1976], сими, альбатроса и некоторых млекопитающих. В геноме мыши *Mus musculus* быстрая фракция в основном состоит из перемежающихся друг с другом повторов короткой длины и одинаковой частоты повторяемости и лишь в очень незначительной степени перемежающихся также и с уникальными последовательностями [Cech, Hearst, 1976]. О связи обращенных повторов с последовательностями быстрой фракции свидетельствует и тот факт, что обращенные повторы ДНК мыши, обработанные S_1 -нуклеазой, реассоциируют в интервале

C_0t 10^{-3} — 10^{-1} , т. е. обращенные повторы ДНК мыши, по крайней мере те, что при реассоциации образуют шпильки с нуклеазочувствительными петлями, построены из последовательностей, повторенных 60 тыс. раз в геноме [Deumling, 1978]. Интересно отметить, что у приматов частота повторения этой фракции строго сохраняется отбором, а первичная структура — нет. Эти данные приводят к предположению, что в эволюции одной группы какая-то определенная последовательность может амплифицироваться, образуя семейство одинаковых последовательностей, в эволюции другой группы амплифицируется иная последовательность, образуя семейство с такой же частотой повторяемости [Donehower, Gillespie, 1979; Singer, Donehower, 1979]. Длина повторяющихся элементов также консервативна. Исходя из того, что большинство повторов у приматов имеют длину 300 нуклеотидов, но при перекрестной гибридизации выявляются как дивергировавшие или же как вообще неродственные последовательности, Дейнинджер и Шмид [Deininger, Schmid, 1976b, 1979] пришли к выводу, что для функции этих (и даже других) типов повторов важна не первичная последовательность, а длина. С помощью различных рестриктаз было показано, что длина основной повторяющейся единицы быстрой фракции равняется 170 и кратному этому значению числу (340, 680) нуклеотидов [Maio et al., 1977; Donehower, Gillespie, 1979; Houck et al., 1979]. Более половины 300-нуклеотидных дуплексов человека имеют один сайт рестрикции (рестриктаза Alu I) на расстоянии 170 нуклеотидов от одного конца и 120 от другого. Фрагменты длиной 170 нуклеотидов реассоциировали в пределах C_0t 10^{-3} — 10^0 , но обнаруживались при реассоциации и в составе обращенных повторов, примыкая в последнем случае к последовательностям любой степени повторяемости [Houck et al., 1979].

Таким образом, при детальном рассмотрении периодичность организации обнаруживается не только для обращенных повторов и высокоповторяющихся последовательностей, но и для последовательностей, повторенных 10^4 — 10^5 раз. Следует отметить, что последовательности быстрой фракции часто выявляются как сателлитная ДНК [Walker, 1971a; Magx et al., 1976; и др.].

Очень важные для понимания функции быстрой фракции результаты были получены в лаборатории Г. П. Георгиева [Razin et al., 1978; Мانتьева и др., 1979]. Исследования были простимулированы тем, что в последнее время опубликован ряд работ, прямо или косвенно свидетельствующих о связи нитей ДНП с белковым матриксом ядра [Igo-Keme-

pez, Zachau, 1978; и др.]. Был сделан вывод, что одним из способов укладки хроматина является образование больших петель ДНП, концы которых фиксированы с помощью молекул белка на матриксе ядра. На электронно-микроскопических препаратах дегистонизированных хромосом (т. е. хромосом, из которых удалены все гистоны, но не другие белки) можно видеть петли ДНК, прикрепленные к хромосомной оси [Wray et al., 1977; Laemmli et al., 1978]. Представлялось интересным выяснить, прикреплена ли ДНК к оси метафазной хромосомы случайно, или в точках прикрепления имеются некие специфические последовательности. С этой целью метафазные или интерфазные хромосомы мыши (L-клетки), лишенные гистонов, обрабатывали специфическими эндонуклеазами и изучали реассоционные свойства ДНК, остающейся связанной с хромосомным остовом. Оказалось, что она обогащена быстро реассоциирующими последовательностями, представленными $5 \cdot 10^4$ раз в геноме [Razin et al., 1978; Мانتьева и др., 1979].

Аналогичный результат был получен при исследовании ДНК крысы, связанной с негистоновыми белками. Эта ДНК была обогащена последовательностями, повторенными $5 \cdot 10^4$ раз в геноме крысы [Jagodzinski et al., 1979].

Количество семейств разных последовательностей в составе быстрых повторов в геноме коровы *Bos taurus* составляет от 8 до 14, каждое из которых состоит из $6 \cdot 10^4$ одинаковых последовательностей (копий) [Mayfield et al., 1980]. На основании данных по *S. raggu* можно также рассчитать количество семейств в составе быстрой фракции этого вида. Размер генома суслика равен $3,2 \cdot 10^9$ пар нуклеотидов, средняя длина быстрых повторов, по данным гель-фильтрации S_1 -устойчивых дуплексов, полученных в интервале $C_0t \cdot 10^{-4} - 10^0$, составляет 0,7—1,0 т. п. н. (в среднем 0,9 т. п. н.), доля этой фракции — 11,8% (см. главу 6). Тогда повторяемость этой фракции должна быть $4,2 \cdot 10^5$ ($0,118 \cdot 3,2 \cdot 10^9 / 900$). Реально же мы наблюдаем гораздо меньшую величину — $8 \cdot 10^4$. Следовательно, последовательности быстрой фракции в геноме *S. raggu* объединяются в пять семейств со сходной первичной структурой в каждом семействе.

В связи с изложенным выше можно предположить, что отсутствие или очень малое содержание быстрой фракции в геномах рептилий и птиц как-то связано с наличием большого количества микрохромосом в кариотипе этих животных вследствие, например, меньшего количества мест прикрепления осевых структур в микрохромосомах.

3. Промежуточные повторы

Относительное количество промежуточных повторов (10^2 — 10^3 копий или чуть больше) варьирует от единиц до 40—50%. Так, в геномах рыб их содержание составляет 20—40% [Куприянова, Тимофеева, 1973; Schmidtke et al., 1979a, b; Гинатулин, Гинатулина, 1979a; Ginatulin et al., 1980], амфибий — 30% и более [Davidson et al., 1973; Baldari, Amaldi, 1976], рептилий — 17—24% [Гинатулин, Гинатулина, 1979a; Epplen et al., 1979], птиц — 10—15% [Eden et al., 1978; Epplen et al., 1978, 1979; Гинатулин, Гинатулина, 1979a], млекопитающих — от едва регистрируемого [Britten, Smith, 1970; Тимофеева и др., 1975] до 9—13% у большинства видов [Вальехо-Роман и др., 1975; Schmid, Deininger, 1975; Мирошниченко и др., 1978; Гинатулин, Гинатулина, 1979a; Гинатулина, Гинатулин, 1979; Ginatulin et al., 1980] и даже до 30% [Santiago, Rake, 1973].

Последовательности промежуточной фракции в геномах многих животных интенсивно перемежаются с неповторяющимися последовательностями [Davidson et al., 1975]. У позвоночных в большинстве случаев интерсперсию этих последовательностей трудно выявить по кинетикам реассоциации ввиду их не менее интенсивного чередования еще и с обращенными повторами, что уже обсуждалось выше. Поэтому часто приходится применять более изощренную технику исследований, чтобы доказать наличие интерсперсии промежуточных и уникальных последовательностей. Лишь для некоторых рептилий [Epplen et al., 1979b], крысы [Pearson et al., 1978], а также для даурского хомячка (см. главу 6) зависимость доли промежуточной фракции от длины фрагментов демонстрируется наглядно.

Если еще недавно считалось, что короткий период интерсперсии промежуточных повторов и уникальных последовательностей (< 3 т. п. н.) является универсальным для эукариот [Davidson et al., 1975; Galau et al., 1976], то сейчас, как подробно обсуждалось в предыдущей главе, можно считать установленным не только разнообразие в количестве чередующихся последовательностей, но и в некоторых случаях отсутствие какого-либо соседства промежуточных повторов и уникальных последовательностей в пределах десятков тысяч нуклеотидов. У представителей класса птиц промежуточные последовательности ДНК чередуются как с длинными (курица, 11—15 т. п. н.), так и со сверхдлинными (> 10 т. п. н.) уникальными последовательностями. Более того, даже внутри рода *Citellus* наблюдается приблизительно такое же разнообразие в периодах чередования последо-

вательностей, как и в классе птиц. Наконец, определенная часть промежуточных повторов может быть представлена короткими последовательностями, чередующимися в определенном порядке друг с другом (пермутированные повторы), подобно аналогичным последовательностям быстрой (и даже сателлитной) фракции мыши (см. рис. 4, Д). В геноме кайры и полоза, например, таким образом организована, по-видимому, вся промежуточная фракция, причем основная повторяющаяся единица имеет размер 120—150 нуклеотидов.

Функции промежуточных повторов, как, впрочем, и большинства других типов последовательностей, остаются пока непонятными. Лишь незначительная часть их транскрибируется. Сюда относятся гены, кодирующие рРНК и некоторые другие гены, например гистоновые, повторяющиеся 10^1 — 10^3 раз (см. обзоры: [Galau et al., 1976; Гвоздев, 1978; Нейфах, Тимофеева, 1978; Босток, Самнер, 1981]). Часть последовательностей промежуточных повторов транскрибируется в составе гигантских ядерных РНК [Jelinek, Darnell, 1972; Georgiev et al., 1973; Ryskov et al., 1973; Kramarov et al., 1977; Gasaryan et al., 1977; Рысков, 1978]. Интенсивная перемежаемость промежуточных повторов и уникальных последовательностей, часть из которых транскрибируется в геноме морского ежа, позволили Бриттену, Дэвидсону и соавторам [Davidson et al., 1977 и др.] развить гипотезу о регуляторной роли промежуточных повторов в жизнедеятельности клеток (см. подробнее ниже). Однако эта гипотеза, как и другие, встречает множество возражений. Например, встречаются организмы, геном которых не содержит чередующихся коротких промежуточных повторов. Кроме того, если в геноме морского ежа почти все уникальные последовательности перемежаются с повторами, то имеется большая вероятность того, что и структурные гены попадают в их число, даже не имея для этого никаких функциональных предпосылок.

4. Медленно реассоциирующая фракция

Доля медленно реассоциирующих последовательностей варьирует в геномах позвоночных от 15% (форель) [Schmidtke et al., 1979b] до 85% (королевский альбатрос) [Гинатулин, Гинатулина, 1979а; Ginatulin et al., 1980]. Если учесть, что размеры геномов форели и альбатроса приблизительно одинаковы, то ясно, что и в абсолютных значениях количество медленно реассоциирующих последовательностей в геноме альбатроса значительно превышает количество их в геноме форели.

Чаще всего медленно реассоциирующая фракция представлена неповторяющимися последовательностями, о чем говорит совпадение значения $C_0t_{1/2}$ этой фракции со значением, ожидаемым исходя из аналитически определенного размера генома. Например, размер генома морской черепахи *Chelonia mydas* равняется $2,7 \cdot 10^9$ пар нуклеотидов [Sparrow et al., 1972]. Это значение близко к размеру, определенному нами кинетически. Следовательно, медленно реассоциирующая фракция *C. mydas* в основном является уникальной. В то же время медленная фракция симы *Opsorhynchus masu*, по-видимому, состоит из последовательностей, повторенных дважды (см. главу 2).

Иногда в состав медленной фракции могут входить малоповторяющиеся последовательности (до 10 копий). Недавно при исследовании медленно реассоциирующей фракции ДНК мыши [Ivanov, Markov, 1978], а также приматов (человека, лори, макаки) [Deininger, Schmid, 1979] была обнаружена гетерогенность ренатуратов последовательностей, считавшихся уникальными. Кривые плавления дуплексов уникальных последовательностей имеют двухфазный характер. Низкотермостабильный компонент предположительно представлен 2—40 раз на гаплоидный геном и состоит из сильно дивергировавших последовательностей. Эти последовательности являются общими в ДНК трех приматов. Высокотермостабильный компонент был в этих исследованиях общим только для ДНК человека и макаки, и, по-видимому, является истинно неповторяющимся.

Неповторяющиеся последовательности в геномах большинства видов позвоночных (и других эукариот) перемежаются с повторами. Длина их колеблется от 0,6 до 3,0 т. п. н. [Davidson et al., 1975; Pearson et al., 1978]. Однако встречаются уникальные последовательности значительно большей протяженности (большинство птиц, рептилий, млекопитающих).

Уникальная ДНК гибридизуется с полисомными мРНК. Копиями уникальных последовательностей является большая часть индивидуальных мРНК. Следовательно, структурные гены в основном представлены в уникальных участках ДНК. Однако содержание уникальных последовательностей, например, в геноме выюна в 10—30 раз выше предполагаемого числа структурных генов [Нейфах, Тимофеева, 1978]. Эти и множество других данных позволяют заключить, что уникальные участки генома высших организмов, не несущие информации о белках и составляющие большую часть генома, выполняют какую-то (какие-то) пока непонятную роль.

§ 2. Происхождение и функции избыточной ДНК

1. Происхождение повторов

Существует несколько гипотез о механизмах возникновения повторяющихся последовательностей ДНК.

Исходя из наблюдаемой в реассоционных экспериментах гетерогенности ДНК по частоте повторяемости и кинетической сложности, Бриттен и Кон [Britten, Kohne, 1968] предположили, что повторяющиеся последовательности возникают в эволюции путем «скачкообразной репликации» (амплификации) определенных довольно коротких участков ДНК с последующей их дивергенцией. Вначале, по-видимому, существуют сателлитоподобные последовательности, т. е. длинные блоки, составленные из множества идентичных коротких субповторов, но затем, в процессе эволюции, в ДНК накапливаются многочисленные мутации, многие субповторы становятся все менее похожими друг на друга, а следовательно, менее повторенными в геноме, вплоть до превращения длинных блоков в уникальные последовательности.

Смит [Smith, 1976] предполагает, что тандемные повторы могли возникнуть в результате неравного кроссинговера. Кроссинговер — взаимный обмен участками гомологичных хромосом, приводящий к перераспределению (рекомбинации) локализованных в них генов и других последовательностей ДНК. Кроссинговер должен включать разрывы молекул ДНК и воссоединение разорванных рекомбинировавших молекул. Кроссинговер может иметь место между двумя идентичными репликами хромосомной ДНК, которые образуются перед каждым делением клетки (сестринский хроматидный обмен), но может иметь место между гомологичными, но не идентичными хромосомами, полученными от разных родителей (межхромосомный обмен). Последний может быть только в мейозе, а сестринский обмен — и в митозе и в мейозе. В большинстве случаев, по-видимому, кроссинговер происходит при выровненных точь-в-точь молекулах ДНК, в которых пары оснований как в исходных, так и в рекомбинировавших последовательностях линейно соответствуют (рис. 37, а). Это так называемый «равный» кроссинговер. В некоторых же случаях участвующие в кроссинговере молекулы не выровнены и образуются рекомбинантные молекулы, которые или длиннее, или короче исходных (рис. 37, б), — «неравный» кроссинговер. Длинные рекомбинанты несут тандемные дубликации последователь-

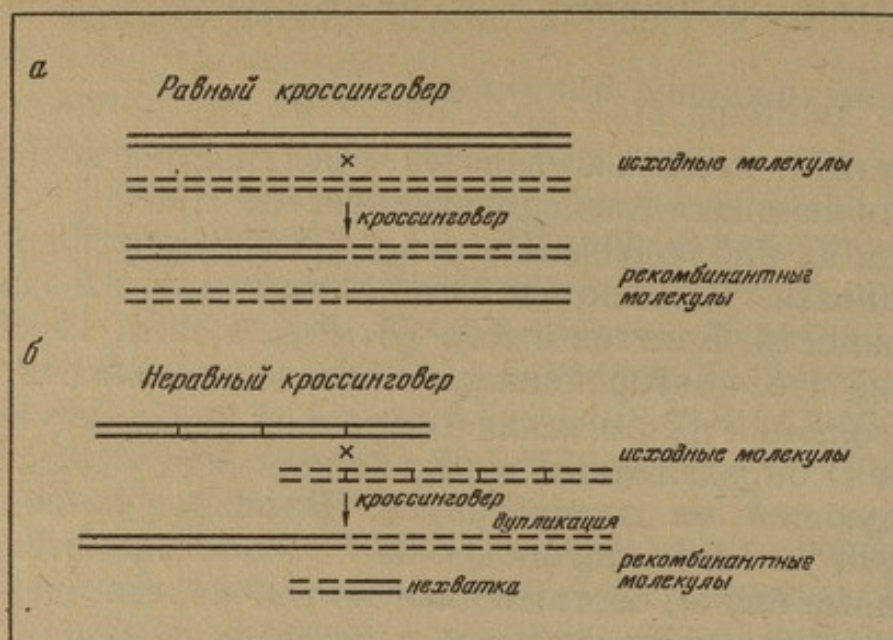


Рис. 37. Схематическое изображение равного и неравного кроссинговера (см. текст)

ностей, а короткие, наоборот, нехватки таких последовательностей. Серия событий такого рода приводит к возникновению в эволюции блоков tandemно повторенных последовательностей [Smith, 1976].

Другая модель tandemной амплификации длинных повторов основана на репликации по механизму катящегося кольца. Этот механизм заключается в образовании из участка ДНК кольца, вдоль которого непрерывно движется фермент-полимераза, что позволяет реплицироваться линейной молекуле, длина которой во много раз превышает кольцевой фрагмент. В образовавшейся молекуле нуклеотидная последовательность кольца tandemно повторена. По такому механизму амплифицируются гены рибосомной РНК у *Xenopus* [Hourcade et al., 1973 и др.].

Прямых доказательств участия какого-либо из этих механизмов в образовании многочисленных копий повторяющихся последовательностей пока нет.

2. Гипотезы о регуляторной роли повторов

Различные предположения о функциях уже упоминались по ходу изложения материала. Здесь мы кратко изложим несколько основных существующих гипотез, авторы которых в свете существующих данных пытаются объяснить роль повторяющихся последовательностей в процессах жизнедеятельности клеток эукариот.

Гипотеза Г. П. Георгиева

В конце 60-х годов в нескольких лабораториях было показано, что в ядре содержатся гигантские РНК, которые значительно больше, чем мРНК из полисом. Большая часть вновь синтезированной РНК распадается в ядре, не входя в цитоплазму. В высокополимерных ядерных РНК обычно представлено больше повторов, чем в мРНК. На основании этих данных Г. П. Георгиев сформулировал гипотезу о строении оперона у эукариот и о регуляции транскрипции [Georgiev, 1969; Георгиев, 1970]. Согласно этой гипотезе транскриптон — элементарная единица транскрипции — состоит из структурной и акцепторной зон. Структурная зона, представляющая собой один или несколько структурных генов, расположена ближе к 3'-концу. Акцепторная зона, во много раз большая, чем структурная, содержит последовательности, способные специфически связываться с регуляторными белками. Таким образом, в отличие от бактериального оперона в транскриптоне имеется несколько операторов, что позволяет значительно разнообразить систему регуляции транскрипции данного структурного гена, в частности создавать интегральные схемы регуляции индукции или включения системы генов, создавая разные наборы активных генов при разных направлениях дифференцировки. РНК-полимераза в ходе транскрипции считывает всю последовательность, расположенную после промотора, включая акцепторную или структурную зону, в результате чего образуется очень большая молекула РНК. Эта РНК подвергается в ядре процессингу, при этом отщепляется и элиминируется неинформативная часть, соответствующая акцепторной зоне, а соответствующая структурной зоне мРНК выходит в цитоплазму.

Гипотезы Бриттена—Дэвидсона

Одновременно с гипотезой Г. П. Георгиева Бриттен и Дэвидсон [Britten, Davidson, 1969] предложили свою гипотезу, призванную объяснить, каким образом в различных дифференцированных клетках многие ферменты (а следовательно, и гены) могут проявляться в различных сочетаниях, обнаруживая способность к достаточно свободной комбинации. Это согласуется с тем, что кластирование (группировка) функционально связанных генов у высших эукариот встречается не так уж часто.

Система регуляции генетической активности у эукариот должна, следовательно, с одной стороны, допускать включение одного и того же гена в различно дифференцированных клетках, а с другой — обеспечивать одновременное включение многих функционально связанных генов. Гипотеза, предложенная указанными авторами в 1969 г., многократно совершенствовалась, по мере накопления фактов несколько видоизменялась [Davidson, Britten, 1973; Davidson et al., 1977], и, наконец, недавно эти авторы предложили новую модель регуляции генов клеток животных, где они рассматривают протекание контролирующих событий не только на транскрипционном, но и в значительной степени на посттранскрипционном уровне [Davidson, Britten, 1979]. Предполагается, что почти все структурные гены локализуются в районах генома, которые непрерывно транскрибируются с одинаковой скоростью, характерной для каждого типа клеток. Эти районы генома названы основными транскрипционными единицами. Продуктами их транскрипции являются так называемые основные транскрипты (ОТ). ОТ сложен по структуре: он содержит район, кодирующий структурный ген, который может включать в себя внедряющиеся и лидирующие последовательности, а также короткие регуляторные участки, представленные повторяющимися последовательностями. Предполагается также, что наряду с основными транскрипционными единицами в геноме имеются районы, которые транскрибируются в каждой клетке специфично и не содержат структурных генов. Эти районы названы интегрирующими единицами регуляции транскрипции. Продуктами транскрипции этих районов являются РНК, функция которых заключается в контроле экспрессии структурных генов. Интегрирующая единица регуляции транскрипции состоит из перемежающихся повторяющихся и уникальных последовательностей или из кластеров повторов. РНК, считанная с интегрирующей единицы регуляции транскрипции, называется интегрирующим регуляторным транскриптом (ИРТ). Интегрирующие единицы регуляции транскрипции находятся под контролем сенсоров, которые реагируют на внешние и внутренние сигнальные молекулы (так же как гены-интеграторы в ранних моделях этих авторов). ИРТ должны представлять наборы ядерных РНК, специфичные для каждой клетки. ИРТ и ОТ, вместе взятые, представляют собой тотальную гетерогенную ядерную РНК (за исключением предшественников сверхчисленных РНК).

Генная экспрессия регулируется РНК—РНК-дуплексами, образованными между повторяющимися последователь-

ностями ОТ и комплементарными последовательностями на соответствующих ИРТ. Эти дуплексы, по мнению авторов, являются результатом межмолекулярной реассоциации, протекающей в ядре. РНК—РНК-дуплексы, возможно, предохраняют ядерную РНК от деградации под действием постоянно присутствующих нуклеаз и тем самым сохраняют во время процессинга специфические для клетки наборы матричной РНК. Скорость образования дуплексов будет зависеть от концентрации в ядре специфичных повторяющихся транскриптов, находящихся на ИРТ. Наборы повторяющихся последовательностей, представленных в этих дуплексах в данных концентрациях, будут клеточно- или тканеспецифичными.

Согласно описанной модели большая часть генома представлена в виде интегрирующих единиц регуляции транскрипции. Таким образом, считают авторы, организация последовательностей генома будет большей своей частью отражать функциональную организацию интегрирующих единиц регуляции транскрипции и их эволюционную историю. По мнению авторов, многие из уникальных последовательностей генома могут быть обнаружены как элементы, разделяющие повторяющиеся транскрипты в интегрирующих единицах регуляции транскрипции.

Как ранний, так и все последующие усовершенствованные варианты гипотезы, предложенные Бриттенем и Дэвидсоном, в том числе и самый последний, приписывали регуляторную функцию коротким среднеповторяющимся (промежуточным) последовательностям, интерсперсным (рассеянными) в геноме эукариот.

Проблема значимости повторов в регуляции активности генов

Обнаружение у многих видов эукариот коротких повторов промежуточной частоты повторяемости, чередующихся с уникальными последовательностями длиной, соответствующей среднему размеру гена, было воспринято как одно из доказательств для гипотез регулярной роли повторов (см. выше, а также: [Britten, Davidson, 1969; 1971; Georgiev, 1969; Георгиев, 1970; Georgiev et al., 1974; Davidson, Britten, 1973, 1979; Davidson et al., 1977]). В пользу этих гипотез свидетельствовали такие факты:

1) короткий период чередования сохраняется в эволюции эукариот от простейших до млекопитающих;

2) короткие промежуточные повторы преимущественно локализируются в непосредственной близости от структурных генов, являющихся в большинстве случаев уникальными последовательностями (см. обзор: [Britten, Davidson, 1976]);

3) повторяющиеся последовательности транскрибируются специфически в разных тканях. Это показано при исследованиях девяти клонированных промежуточных повторов ДНК морского ежа [Costantini et al., 1978; Scheller et al., 1978].

Однако результаты исследований последних трех-четырёх лет трудно соотнести с гипотезами об общей регуляторной роли коротких повторов. Приведем некоторые моменты, противоречащие основным положениям этих гипотез:

1) хотя короткий период интерсперсии последовательностей в геноме широко распространен среди эукариот, он не является универсальным. Обнаружены организмы как среди животных, так и среди низших и высших растений, в геномах которых короткие последовательности или совсем отсутствуют, или представлены в очень небольшом количестве;

2) в геноме крабов с уникальными последовательностями чередуются высокоповторяющиеся, а не промежуточные последовательности [Christie, Skinner, 1979], которые вообще отсутствуют у этих видов [Vaughn, 1975]. Показано также, что часть копий некоторых повторяющихся генов дрозофилы внедряются между сателлитными последовательностями (ген Dm 142) [Carlson, Brutlag, 1978];

3) существуют транскрипционно активные гены с меняющейся локализацией в хромосомах («прыгающие гены» Dm 225, Dm 234 дрозофилы) [Ananiev et al., 1978];

4) в геноме некоторых грибов, например ахлии, характеризующейся сверхдлинным периодом чередования, количество перемежающихся последовательностей в 10 раз меньше, чем уникальных последовательностей, выраженных в мРНК. Следовательно, число повторов, контактирующих с уникальными последовательностями, сильно отличается от числа структурных генов [Hudspeth et al., 1977];

5) в эволюции некоторых групп при возникновении новых видов могут возникнуть или исчезнуть целые семейства последовательностей. Это показано для саламандр рода *Plethodon* [Mizuno, Macgregor, 1974] (см. также главу 3), морских ежей [Moog et al., 1978; Chaudhary, Craig, 1979], злаков [Flavell, Smith, 1976; Flavell et al., 1977].

По-видимому, в эволюции возможно не только возникновение или исчезновение различных семейств последователь-

ностей, но и их перераспределение в геноме относительно других последовательностей. Так, в ДНК крысы длинные и короткие повторы оказались составленными большей частью из одинаковых последовательностей, гибридизирующихся друг с другом [Wu et al., 1977], т. е. можно предположить, что короткие повторы «при необходимости» могут располагаться в геноме тандемно, образуя кластер, или же рассеянно, чередуясь с другими типами последовательностей. В ДНК некоторых видов сусликов, имеющих приблизительно одинаковый размер генома (*S. parryi*, *S. major*, *S. pygmaeus*, *S. fulvus*), содержится разное количество тех или иных последовательностей и, кроме того, эти последовательности по-разному распределены друг относительно друга. Так, количество промежуточных повторов у этих видов приблизительно одинаково, количество же их, чередующихся с умеренно длинным периодом с уникальными последовательностями, разное. Например, в геноме *S. fulvus* значительная часть промежуточных повторов отрезками длиной 3—4 т. п. н. внедрена между уникальными последовательностями длиной 10 т. п. н. и более, а в геноме *S. major* и *S. pygmaeus* существенно меньшая их доля организована таким образом. Пока неизвестно, шла ли эволюция геномов сусликов лишь путем перераспределения промежуточных повторов с внедрением их между уникальными последовательностями, или происходили утрата одних и синтез других таких же по длине и повторяемости повторов с переменной их локализации относительно уникальных последовательностей. Другая же часть промежуточных повторов образует очень длинные блоки, размером более 10 т. п. н.

Таким образом, следует предположить, что у разных видов сусликов повторяющиеся и уникальные последовательности могут по-разному перераспределяться в хромосомах, образуя у одних видов большие кластеры, у других кластеры поменьше. Маловероятно, чтобы близкие виды, обитающие часто в сходных условиях, требовали для своей жизнедеятельности разную степень регуляции активности генов.

Таким образом, в чистом виде гипотезы о регуляторной роли повторов встречают пока больше возражений, чем подтверждений. Однако если предположить, что эволюция эукариот на молекулярном уровне представляет собой эволюцию регуляторных систем, то приведенные выше возражения большей частью обернутся в пользу упомянутых гипотез. Тем не менее все же трудно поверить в то, что системы регуляции активности гена столь лабильны в таксонах доста-

точно низкого ранга. Необходимо искать в этом плане более приемлемое объяснение высокой динамичности генома эукариот по сравнению с прокариотами.

3. Динамичность генома, направленная эволюция последовательностей и «эгоистичная» ДНК

В 70-х годах накопилось много фактов, свидетельствующих о «горизонтальной» динамичности генома. Стало известно немало примеров дифференциальной амплификации структурных генов в онтогенезе и у разных индивидов одного вида, внутривидовых различий в количестве и локализации отдельных участков ДНК, внутривидового полиморфизма в количестве гетерохроматина, например в хромосомах человека, наличия перемещающихся генетических элементов («прыгающих» генов) и т. д. Объяснение подобных явлений, очевидно, требует нового подхода к интерпретации генетической системы. В конце 70-х и начале 80-х годов появились две гипотезы, в которых отдельные клетки многоклеточного организма рассматриваются как среда, в которой последовательности ДНК реплицируются, мутируют и эволюционируют [Красилов, 1979; Doolittle, Sapienza, 1980; Krassilov, 1980; Orgel, Crick, 1980].

В. А. Красилов рассматривает геном как популяцию генов, которая эволюционирует в направлении повышения приспособленности к внутриклеточной среде путем дифференциального размножения генов. Различные воздействия на организм, вызывающие те или иные изменения в его функционировании, могут повлиять на внутриклеточную среду, а геном отвечает на действие среды путем синтеза дополнительной ДНК и таким образом вмешивается в процессы дифференциации клеток, регуляции генной активности, поведения хромосом. Геном может включать рецессивные аллели, влияющие на гомеостаз, и с помощью гетерохроматизации влиять на процессы репликации и хромосомного спаривания. Следовательно, воздействия внешней среды влияют на направленность эволюции генома. Адаптивную эволюцию генома можно рассматривать, согласно Красилону, как антиэнтропийный процесс, противостоящий случайному мутированию. Эволюция генома адаптивна лишь с точки зрения популяции генов. Для организма же в целом она может быть полезной, вредной или нейтральной. Здесь вступает в действие отбор организмов (фенотипов), который накладывается на эволюцию генов, элиминируя те или иные ее направления.

Таким образом, случайность не играет существенной роли в эволюции генов. Генотип направленно изменяется в ряду клеточных поколений при жизни многоклеточного организма (онтогенез) и его потомства (филогенез) [Красилов, 1979; Krassilov, 1980].

Дулитл и Сапиенса, а также одновременно с ними Орджел и Крик [Doolittle, Sapienza, 1980; Orgel, Crick, 1980] предположили, что имеется особый тип естественного отбора, который действует внутри генома, так называемый «нефенотипический», или «внутригеномный», отбор. Они утверждают, что определенная часть ДНК может существовать, увеличиваться или уменьшаться в количестве сама по себе. Ее единственная функция заключается в сохранении самой себя в геноме, подобно тому как функцией организма в популяции является самосохранение (борьба за существование). Авторы назвали такую ДНК «эгоистичной» или «паразитической». Наиболее вероятным кандидатом на роль эгоистичной ДНК являются, по мнению авторов, среднеповторяющиеся последовательности, но могут быть и уникальные последовательности, функция которых до сих пор не установлена. Основные свойства эгоистичной ДНК: 1) она возникает тогда, когда определенные последовательности ДНК образуют множество добавочных копий самой себя внутри генома; 2) она не дает никакого специфического вклада в фенотип организма.

Если с помощью мутации или других способов появляется возможность существовать ДНК без воздействия на фенотип организма, то неизбежно будут возникать последовательности, функция которых будет состоять только в том, чтобы существовать, и такие последовательности будут поддерживаться тем, что авторы назвали «нефенотипическим» отбором.

По мнению Дулитла и Сапиенсы, наличие в геномах эукариот значительного количества среднеповторяющихся последовательностей ДНК, различные способы их интерсперсии с уникальными последовательностями указывают на отсутствие у них определенного филогенетического или фенотипического смысла. Если же эти последовательности являются продуктом нефенотипического отбора (т. е. эгоистичной ДНК) внутри генома, то вовсе не нужно придумывать для них какую-либо клеточную функцию, чтобы объяснить их наличие, поведение и распространенность у эукариот.

Гипотеза об эгоистичной ДНК была призвана объяснить избыточность генома эукариот в связи с обнаружением таких

загадочных фактов, как наличие в геномах мобильных диспергированных генов, явление разорванности генов (см. обзор: [Крамеров, 1982]), а также в связи с невозможностью найти какое-либо приемлемое объяснение существованию парадокса увеличенного размера генома (парадокс С-величины) с позиции функциональной значимости большей части генома.

Гипотеза подверглась критике, многие положения отвергались критиками, но, в сущности, спор сводился к тому, что многие молекулярные биологи не пожелали (пока?) принять новизну идеи или выбор названия для избыточной ДНК. Однако вместе с тем, как указал недавно Дулитл [Doolittle, 1982] — один из авторов этой гипотезы, «выявлена уже реальная польза гипотезы — менее часто стали появляться автоматические призывы и послышки к функции избыточной ДНК как регулятора генной активности или к недоказуемым функциям содействия генетической изменчивости, которые изначально излишне перегрузили научную литературу по структуре и функции компонентов генома».

§ 3. Взаимоотношение между молекулярной и надмолекулярной организацией генома

1. Число хромосом

На сегодняшний день мы знаем несколько способов изменения структуры кариотипа, из которых основными являются: 1) изменение числа хромосом при сохранении числа хромосомных плеч — робертсоновские перестройки; 2) тандемные слияния хромосом, изменяющие как число хромосом, так и число хромосомных плеч; 3) изменение числа хромосомных плеч при сохранении числа хромосом — за счет появления дополнительных гетерохроматиновых блоков.

Один из основных путей преобразования хромосом в эволюции близких видов — робертсоновские перестройки. Современные данные свидетельствуют о разнонаправленности этого процесса, т. е. о том, что в эволюции может происходить как уменьшение числа хромосом за счет слияния одноплечих акроцентрических хромосом в двуплечие метацентрические, так и увеличение их числа за счет разрыва двуплечих хромосом [Matthey, 1976]. Механизм этого явления до сих пор не ясен. Наиболее благодарными объектами для исследования механизма робертсоновских перестроек являются так называемые «робертсоновские веера».

В исследованном нами случае разнохромосомных форм *Ellobius talpinus* преобразование хромосом (в данном случае их слияние) произошло, по-видимому, совсем недавно и, следовательно, времени для последующей потери ДНК в эволюции (которой, например, могла бы сопровождаться дивергенция этих форм) было мало. В связи с этим совпадение кинетических кривых для ДНК 34- и 54-хромосомных форм слепушонок, на наш взгляд, однозначно свидетельствует о том, что никаких существенных изменений в количестве ДНК и молекулярной структуре генома *E. talpinus* при робертсоновских перестройках не происходило [Гинатулин и др., 1977; Ginatulina et al., 1980] (см. также главу 6).

Аналогичные результаты были получены при исследовании других робертсоновских систем. Камингс и Авелино [Comings, Avelino, 1972] исследовали количество сателлитной ДНК, входящей в состав прицентромерного гетерохроматина, у *Mus musculus* ($2n=40$) и *Mus poschiavinus* ($2n=26$), гомозиготной по 14 робертсоновским слияниям хромосом, и не обнаружили существенной потери ДНК у последних. Миклош и соавторы [Miklos et al., 1980] охарактеризовали геномы разнохромосомных близкородственных крыс — *Rattus vilosissimus* ($2n=50$), *Rattus norvegicus* ($2n=42$) и *Rattus sordidus* ($2n=32$) — с помощью термальной денатурации ДНК, аналитического ультрацентрифугирования и реассоциации ДНК (но без анализа кинетики), а также методом рестрикционного анализа ДНК и показали, что, во-первых, эти виды содержат очень малое количество высокоповторяющейся, сателлитоподобной, ДНК и, во-вторых, практически не отличаются по всем изученным молекулярным характеристикам генома. Авторы этого исследования своими данными, а также критическим анализом данных из литературы опровергли две существовавшие гипотезы, постулирующие важность высоких количеств сателлитной ДНК (и гетерохроматина) для процессов хромосомных перестроек в эволюции: а) гипотезу Хатча и соавторов [Hatch et al., 1976], согласно которой для возникновения хромосомных перестроек (а через это для цитогенетической эволюции видов) необходимо большое количество сателлитной ДНК в геноме; б) гипотезу Фрай и Сальсера [Fry, Salser, 1977], согласно которой различия в количестве сателлитной ДНК у гомологичных хромосом ведут к затруднению их спаривания и в конечном итоге через барьер стерильности к видообразованию. Авторы заключают, что большое количество высокоповторяющейся ДНК не является обязательным для возникновения и фикса-

ции хромосомных перестроек, что в литературе для изученных объектов можно найти почти любую ситуацию — от групп видов с высоким содержанием сателлитной ДНК и с малыми по объему хромосомными перестройками до групп видов с крайне низким содержанием высокоповторяющейся ДНК и крупными (массовыми) хромосомными перестройками [Miklos et al., 1980].

Итак, из полученных к настоящему времени данных по анализу «робертсоновских систем» видов можно сделать вывод, что перестройки хромосом, происходящие в эволюции близких видов по типу робертсоновских, не вносят (или не сопровождаются) существенных изменений в молекулярную структуру генома и, по-видимому, в его размер. Вероятнее всего, что при этом не изменяется и организация нуклеотидных последовательностей в геноме, хотя последнее не проверялось и нуждается в дополнительных исследованиях в этой области.

Что же касается крупных нецентрических перестроек хромосом неробертсоновского типа, то тут дело обстоит, по-видимому, несколько сложнее. Так, как показали наши исследования, геном закавказской слепушонки с 17 хромосомами в кариотипе, который, по-видимому, является результатом не только робертсоновских, но и ряда других перестроек предкового 54-хромосомного кариотипа, имеет некоторый дефицит уникальных последовательностей по сравнению с геномами 54- и 34-хромосомных форм обыкновенной слепушонки (см. главу 6). По опубликованным совсем недавно данным Шмидтке и соавторов [Schmidtke et al., 1981], проанализировавших еще более яркий случай неробертсоновских слияний хромосом у двух близкородственных видов оленей — *Muntiacus muntjak* ($2n=6/7$) и *Muntiacus reevesi* ($2n=46$), эти два вида оленей имеют одинаковое количество уникальных последовательностей, но разное количество промежуточных повторов: у *M. muntjak* их в 2 раза меньше. Исследования размера генома обнаружили, что у этого вида величина генома на 20—30% меньше, чем у *M. reevesi* [Wurster, Benirschke, 1970; Wurster, Atkin, 1972]. Можно в связи с этим вспомнить, что у отличающейся среди млекопитающих низким числом хромосом полевки *Microtus oregoni* ($2n=17$) размер генома оказался также на 10% меньше, чем у других млекопитающих [Atkin et al., 1965]. Создается впечатление, что, несмотря на различия в применяемых методиках, многие полученные результаты свидетельствуют об одном: при тандемных слияниях хромосом (в отличие от центрических, робертсоновского типа), по-видимому, проис-

ходит незначительная утрата ДНК не за счет высокоповторяющихся, сателлитоподобных последовательностей, а за счет малоповторенной (индийский мунтжак) или уникальной (закавказская слепушонка) части генома. Возможно, что при таких слияниях хромосом меняется и организация генома.

Появление в эволюции близких видов большого числа дополнительных гетерохроматиновых плеч наблюдалось у ряда групп, наиболее известными из которых являются хомячки рода *Peromyscus* [Pathak et al., 1973; Deaven et al., 1977] и куницеобразные [Раджабли, Графодатский, 1977]. В обоих указанных случаях увеличение числа хромосомных плеч сопровождалось увеличением размера генома. К сожалению, у этих видов осталась неисследованной структура генома, и поэтому невозможно сказать, какие фракции ДНК изменялись при таких реконструкциях кариотипа.

2. Гетерохроматин

Структура генома и гетерохроматин

В 1969—1970 гг. несколькими группами исследователей, почти одновременно было показано, что конститутивный гетерохроматин, или С-гетерохроматин, многих видов млекопитающих содержит высокоповторяющиеся, сателлитные, ДНК. В дальнейшем этот факт подтверждался во все более возрастающем числе работ и на самых различных объектах.

В 1974 г. Арриги [Arrighi, 1974; Arrighi et al., 1974] обобщил известные к тому времени сведения по конститутивному гетерохроматину и сформулировал шесть основных черт, присущих этому хромосомному образованию, из которых укажем интересующие нас два свойства: а) конститутивный гетерохроматин выявляется методом С-окрашивания хромосом и б) С-гетерохроматин содержит высокое количество повторяющейся ДНК (включая сателлиты). Однако имелись и исключения. Так, не удалось выявить связи между С-гетерохроматином и повторяющейся ДНК у одного из хорошо изученных объектов — китайского хомячка *Cricetus griseus* при использовании различных методов анализа его генетического материала. Камингс и Матточchia [Comings, Mattocchia, 1972] показали, что кинетики реассоциации препаратов ДНК, полученных отдельно из гетерохроматина и эухроматина, полностью совпадают в области реассоциации повторов ($C_0t < 1$), а Арриги и соавторы [Arrighi et al., 1974] нашли, что многие С-окрашенные районы хромосом китайского хомячка не содержат повы-

шенного количества повторяющейся ДНК. Сопоставление структуры генома и результатов С-окрашивания хромосом у восьми видов сусликов рода *Citellus* обнаружило наличие прямой корреляции между относительным содержанием С-гетерохроматина и размером генома, с одной стороны, и содержанием ДНК в очень быстрой, быстрой и уникальной фракциях — с другой, и в то же время — отсутствие корреляций количества гетерохроматина с содержанием промежуточных повторов ДНК. Полученные данные свидетельствуют, во-первых, о том, что обнаруженные различия в размерах геномов у сусликов обусловлены, скорее всего, фракцией ДНК, входящей в состав гетерохроматина, а во-вторых, о том, что эта дополнительная ДНК содержит как повторяющиеся, так и уникальные последовательности нуклеотидов. Предполагаемое присутствие в гетерохроматиновых районах хромосом сусликов уникальных последовательностей ДНК не кажется удивительным. Еще в 1975 г. Госден и Митчелл [Gosden, Mitchell, 1975], исследуя ДНК из конденсированного и диспергированного хроматина человека, отметили, что оба типа хроматина содержат не только повторяющиеся, но и уникальные последовательности. Корреляция между размером генома, содержанием повторов (сателлитной ДНК) и количеством гетерохроматина была показана и для грызунов родов *Dipodomys* и *Peromyscus* [Hatch et al., 1976; Deaven et al., 1977], а также для некоторых видов куницеобразных и насекомоядных [Графодатский и др., 1981].

Несколько иная картина наблюдалась нами при исследовании геномов китообразных и большинства видов хомяков. По данным Арнасона [Arnason, 1974b], все зубатые киты, включая кашалота, имеют низкое содержание гетерохроматина в хромосомах (10—15%), тогда как несколько изученных видов усатых китов рода полосатиков характеризовались повышенным содержанием С-гетерохроматина [25—30%]. Наши же данные говорят о том, что никаких существенных различий в структуре и размере генома у кашалота и полосатика Брайда нет. Точно так же большинство видов хомяков в отличие от сусликов и многих других изученных видов млекопитающих, несмотря на значительную разницу в содержании С-гетерохроматина у ряда видов этой группы, практически не отличаются по относительному содержанию очень быстрой фракции. Из трех видов, имеющих повышенное количество гетерохроматина (32—34%), лишь у *Tscherskia triton* геном заметно обогащен последовательностями очень быстрой фракции.

Размер генома хомяков возрастает с увеличением количества С-гетерохроматина, но это верно не для всех видов. *Cricetus cricetus*, имеющий 34% гетерохроматина, т.е. такое же количество, как и *M. auratus*, имеет вдвое меньший размер генома. Все это позволяет предполагать иную природу С-гетерохроматина у хомяков (кроме *T. triton*) по сравнению с сусликами и большинством других видов млекопитающих. Необычность свойств гетерохроматина китайского хомячка, обнаруженная несколькими авторами, использовавшими различные методические подходы, а также наличие двух типов гетерохроматина у *M. auratus* (отличающихся по интенсивности и стойкости С-окраски) [Arrighi et al., 1974] вместе с нашими данными по структуре и организации генома хомяков дают основание считать, что в группе палеарктических хомяков молекулярная организация гетерохроматина хромосом неодинакова.

Итак, несмотря на сходство в проявлении гетерохроматина при С-окрашивании хромосом, молекулярная структура этих гетерохроматиновых районов хромосом, по крайней мере у млекопитающих, может, по-видимому, существенно различаться: если в одних случаях в гетерохроматиновых районах сконцентрированы последовательности какого-то определенного типа, то в других случаях предпочтительной концентрации каких-либо определенных последовательностей не наблюдается.

Полученные нами выводы о гетерогенности гетерохроматиновых районов хромосом по составу входящих в них последовательностей ДНК хорошо согласуются с целым рядом других установленных фактов подобного рода.

Организация генома и гетерохроматин

Интересно было бы теперь выяснить, имеется ли какая-либо связь между способом организации генома и картиной дифференциального окрашивания хромосом эукариот. К сожалению, не всегда имеется возможность сопоставления этих характеристик генома. Чаще всего у видов, у которых выяснен способ молекулярной организации генома, хромосомы не подвергались С-окрашиванию, и наоборот.

Сопоставляя способы молекулярной организации генома и интенсивность С-окрашенных участков хромосом организмов, для которых такое сопоставление возможно, можно отметить интересную закономерность: виды, в геноме которых преобладают короткие перемежающиеся последовательности («Хепорус-тип» организации), содержат малое коли-

чество С-гетерохроматина в хромосомах, менее 20%. Так, сравнительно мало гетерохроматина в хромосомах крысы (менее 10%) [Miklos et al., 1980], даурского хомячка (менее 15%) [Борисов, Картавцева, личн. сообщ.], человека (17%) [Hsu, Arrighi, 1971], большинства амфибий [Schmid, 1978a, b], лососевых рыб [Zenzes, Voiculescu, 1975; Thorgaard, 1976] и др. У всех этих видов доля генома, содержащая уникальные последовательности, перемежающиеся с повторами с коротким периодом, составляет около или более 50%. Наоборот, виды с повышенным количеством С-гетерохроматина в хромосомах, такие, как дрозофила (30%) [Miklos, John, 1979], серая мясная муха (более 30%) [Samols, Swift, 1978], птицы — в многочисленных микрохромосомах, а иногда и в макрохромосомах [Stefos, Arrighi, 1971, 1974; Patnaik et al., 1981], крысовидный хомячок (32%) [Kato, 1979], золотистый хомячок (34%) [Hsu, Arrighi, 1971], малый, желтый и большой суслики (29—30%) [Лярупова et al., 1980b], имеют геном с преобладанием умеренно длинных и сверхдлинных чередующихся последовательностей, или, иначе говоря, с «дрозофильным» и «альбатросным» способами организации. Однако, как это всегда бывает, имеются исключения и среди них, например обыкновенный хомяк *Cricetus cricetus*. С-окрашивание хромосом этого вида выявляет 33—34% С-позитивного материала [Gamperl et al., 1976, 1978; Vistorin et al., 1976]. Исследование же организации генома показало, что более 50% генома этого вида содержат короткие уникальные последовательности, чередующиеся с повторами с периодом менее 2 т. п. н. (см. главу 6).

Создается впечатление, что различная окраска хромосомных участков зависит от длины последовательностей ДНК, в первую очередь, по-видимому, от длины повторов (блока повторов). Это неудивительно, ведь хорошо известно, что сателлитная ДНК мыши, состоящая из очень протяженных блоков, локализуется именно в плотно окрашивающихся прицентромерных районах хромосом [Jones, 1970; Pardue, Gall, 1970]. Если же повторы или блок повторов средней протяженности, порядка нескольких тысяч пар нуклеотидов, то интенсивность окраски хромосом таких видов, по-видимому, будет меньше. Известно, что α -гетерохроматин дрозофилы (*D. hydei*) упакован плотно, так как содержит сателлитную ДНК, а β -гетерохроматин, содержащий промежуточные повторы, упакован рыхлее [Renkawitz, 1978a, b]. Если предположить, что геном *D. hydei* устроен так же, как и *D. melanogaster*, то более рыхлую упаковку

β -гетерохроматина можно объяснить умеренной длиной повторов промежуточной фракции (5—6 т. п. н.) [Mapping et al., 1975] по сравнению со сверхдлинными сателлитными повторами. На фотографиях С-окрашенных кариотипов птиц хромосомы курицы окрашены слабее, чем хромосомы других видов [Stefos, Arrighi, 1971, 1974]. Это коррелирует с тем, что в геноме курицы большая часть повторов имеет длину 4 т. п. н., а у других птиц значительно большую (см. главу 5). Наконец, если повторы короткие, то их локализацию на метафазной хромосоме трудно будет выявить с помощью светового микроскопа, даже если они содержат Гимза-краситель и расположены очень упорядоченно. Этим и можно объяснить малое количество видимого С-гетерохроматина у видов с преобладанием в геноме коротких перемежающихся повторов. Это предположение требует экспериментальных доказательств, одних корреляций мало, но если действительно окажется, что интенсивность С-окрашивания зависит от длины повторов, расположенных очень упорядоченно, т. е. правильно ориентированных на хромосоме, в отличие от уникальных последовательностей, образующих беспорядочные петли (см., например: [Mullinger, Johnson, 1980 и др.]), то это будет означать, что различные способы организации геномов эукариот отражаются на надмолекулярном уровне в виде различий в тонкой структуре их хромосом. А если это так, то проблема выяснения роли повторов и их геномной организации будет сведена к проблеме выяснения роли тех или иных структур в хромосомах и роли самих хромосом.

3. Проблема функциональной значимости гетерохроматина

В предыдущих разделах главы мы уже кратко рассматривали многие из имеющихся предположений о роли повторяющихся (и в ряде случаев уникальных) последовательностей ДНК в структурной организации хромосом, особенно в разделах, посвященных анализу данных по отдельным фракциям ДНК. Большая часть гипотез такого рода сосредоточена вокруг вопроса о взаимоотношении высокоповторяющейся, сателлитной, ДНК с гетерохроматином. Появлению этих гипотез способствовало, с одной стороны, внимание к гетерохроматину вообще как к структуре эукариотической хромосомы, остающейся загадочной вот уже несколько десятков лет, а с другой стороны, — обнаружение

у целого ряда видов эукариот локализации высокоповторяющихся последовательностей в гетерохроматических районах хромосом.

Гипотезы о роли гетерохроматических районов А. А. Прокофьева-Бельговская [1977] на основе имеющихся в то время данных объединила в пять групп, в каждой из которых рассматривается один из возможных вариантов их значения в жизнедеятельности клетки: 1) структурная роль, 2) защитная роль, 3) роль в клеточном метаболизме, 4) роль в транскрипции и 5) роль в эволюции кариотипов. Рассмотрим их согласно автору этого обзора [Прокофьева-Бельговская, 1977], с небольшими комментариями, основанными на некоторых данных последних лет.

Структурная роль гетерохроматина

Исходя из данных о том, что гетерохроматические районы обладают высоко выраженной способностью к конъюгации, высказано предположение, что одной из функций центрального гетерохроматина является первичное сближение гомологичных хромосом в митозе, обеспечивающее в дальнейшем их полную конъюгацию на молекулярном уровне [Walker, 1971a, b]. Предполагают также, что гетерохроматические районы создают упорядоченность расположения хромосом в интерфазном ядре, имеют значение в складывании хромосомных нитей, нужны для организации микротрубочек и др.

Гипотеза Уокера была уже тогда сомнительна, так как способность гетерохроматических районов к сближению и конъюгации будет скорее затруднять правильный синапсис гомологичных хромосом, чем облегчать его [Прокофьева-Бельговская, 1977]. Исключение гетерохроматических районов из половых хромосом или аутосом дрозофилы никак не влияло на спаривание гомологов в мейозе и митозе [Yamamoto, Miklos, 1977; Yamamoto, 1979]. Было показано, что аутосомное спаривание зависит существенно от гомологии эухроматических районов [Yamamoto, 1979]. Два подвида мышей — *Mus musculus musculus* и *Mus musculus molossinus* содержат одинаковый сателлит, но в сильно различающихся количествах. *M. m. molossinus* имеет только 60% количества сателлитной ДНК, имеющейся у *M. m. musculus*, и эти 60% распределены по хромосомам не так, как у *M. m. musculus*. Тем не менее было показано, что у гибридов этих подвидов происходит нормальное спаривание хромосом и нормальный мейоз и что они являются полностью плодовитыми [Miklos, John, 1979].

Защитная роль гетерохроматина

Гипотезы о том, что гетерохроматические районы выполняют защитную роль для жизненно важных элементов хромосом, основаны на фактических данных о свойствах и локализации гетерохроматических районов в хромосомах. Защитная роль рассмотрена в нескольких аспектах: а) жизненно важные элементы хромосомы — центромеры, вторичные перетяжки, формирующие ядрышко, и теломеры расположены в гетерохроматических районах, которые могут защищать их от эволюционных изменений и влияния изменяющихся условий среды; б) большое биологическое значение имеет преждевременная и длительная гетерохроматинизация, которая свойственна гетерохроматическим районам и обуславливает важные особенности поведения некоторых хромосом или их участков в мейозе.

Гетерохроматические районы хромосом компактизуются (конденсируются) раньше, чем другие районы. Этим блокируется полная конъюгация, а следовательно, и кроссинговер в таких участках, как центромера, рибосомальные цистроны, а также конъюгация X- и Y-хромосом и кроссинговер между ними.

Таким образом, гетерохроматические районы охраняют эти участки генома от кроссинговера — нарушения групп сцепления при неравном кроссинговере. Чуть позже мы еще раз вернемся к влиянию гетерохроматина на кроссинговер.

Установлено также, что ряд мутагенов и вирусы рвут хромосомы главным образом по гетерохроматическим районам, обеспечивая этим эволюционные преобразования хромосом без опасности существенных повреждений генетического материала.

Роль гетерохроматина в клеточном метаболизме

Гипотезы этой группы отмечают для гетерохроматина важность самого его существования только как реплицирующегося района хромосом: гетерохроматические районы реплицируются и отвлекают на себя при этом из клетки нуклеотиды или гистоны, регулируя их количество в клетке и таким образом контролируя репрессию и дерепрессию активности генов, особенно приближенных к гетерохроматическим районам, или контролируя общую скорость окислительного метаболизма. Согласно этим гипотезам гетерохроматин существует только как реплицирующийся участок хромосом, т. е. ему «важно ничего не делать» (вспомним гипотезу об эгоистичной ДНК).

Некоторые факты свидетельствуют о том, что в определенных условиях гетерохроматические районы способны к транскрипции. Это позволило предположить, что они содержат специфические гены, действующие на ранних стадиях развития, которые затем репрессируются, но могут дерепрессироваться в условиях стресса.

Роль в эволюции кариотипа

Полученные за последние десятилетия многочисленные данные привели к заключению, что обогащение или обеднение хромосом гетерохроматином небезразлично для вида. Считается очень вероятным, что изменения содержания гетерохроматических районов у видов приспособительны: они обеспечивают быструю адаптацию к изменяющимся условиям среды. К такому заключению пришли, например, исследователи содержания сателлитной ДНК гетерохроматических районов у 12 видов кенгуровых крыс [Mazrimas, Hatch, 1972]. Авторы сопоставили содержание сателлитной ДНК с экологическими и биологическими особенностями кенгуровых крыс и выяснили, что содержание сателлитной ДНК прямо связано со степенью лабильности вида, быстрой его адаптации к неожиданным изменениям условий среды, и оказалось, что виды, богатые сателлитной ДНК, состоят из многих подвидов и характеризуются вариацией хромосомных наборов. Наоборот, узкоспециализированные виды, занимающие ограниченные биологические ниши, бедны сателлитной ДНК и имеют мало подвидов.

Обширное исследование 22 видов и нескольких подвидов кенгуровых крыс, проведенное Хатчем с соавторами, позволило высказать предположение, что гетерохроматические районы способны осуществлять глобальный контроль над адаптацией видов к условиям среды и определять эволюцию новых видов [Hatch et al., 1976].

Однако исследование размеров генома и хромосомных характеристик у пяти видов и 21 подвида гоферов рода *Thomomys* не выявило сколько-нибудь значительных корреляций между содержанием гетерохроматина и добавочной ДНК с фертильностью или видообразованием, с различными эволюционными или систематическими характеристиками группы [Patton, Sherwood, 1982; Sherwood, Patton, 1982].

Исследуя кузнечиков рода *Attractomorpha* с различающимся количеством теломерного гетерохроматина, Мик-

лош и Нанкивелл [Miklos, Nankivell, 1976] обнаружили, что наличие теломерного гетерохроматина или его количество влияет на частоту кроссинговера в прилежащих районах хромосом в мейозе, другими словами, на частоту рекомбинации генов в этих районах хромосом. Эти и некоторые литературные данные по хромосомам дрозофилы, ежей и других видов привели к заключению, что одной из центральных функций сателлитной ДНК является регуляция частоты рекомбинации участков хромосом [Miklos, Nankivell, 1976; Miklos, John, 1979; Miklos et al., 1980; Miklos, Gill, 1981]. Мейотическая рекомбинация не имеет места внутри сателлитной ДНК. Гены, окруженные сателлитной ДНК, также исключены из рекомбинационных событий. Миклош и Джилл [Miklos, Gill, 1981] полагают, что сателлитная ДНК, варьируя от индивида к индивиду, от популяции к популяции и от вида к виду, воздействует на организм, изменяя вероятность рекомбинации рядом расположенных последовательностей ДНК, вероятность рекомбинации на других хромосомах в геноме и эффективно делая гены устойчивыми к рекомбинации. Таким образом, количество сателлитной ДНК оказывает глубокое влияние на комбинацию генов или участков генов в эволюции. Наоборот, если рекомбинация не ведет к изменениям вообще или ведет к изменениям, на которые не действует отбор, то сателлитная ДНК, которая влияет на позицию этого рекомбинационного эффекта, не будет эволюционно значимой.

Почти все авторы, пытающиеся объяснить роль гетерохроматина и соответственно роль повторов, которые локализуются в гетерохроматических районах, в качестве повторяющихся последовательностей рассматривают исключительно сателлитную ДНК. Однако мы уже не раз убеждались по ходу обсуждения имеющегося материала, что, во-первых, сателлитная ДНК не является единственным типом повторяющейся ДНК и, наоборот, не всегда одни и те же по повторяемости классы повторов выявляются в виде сателлитной ДНК и что, во-вторых, гетерохроматин не всегда состоит только из сателлитной ДНК. Зачастую гетерохроматические районы содержат, кроме нее, любые типы избыточной ДНК, вплоть до уникальной. Количество видимого в микроскоп С-гетерохроматина очень хорошо коррелирует с размером генома (см. главу 6, в также: [Gamperl et al., 1982]), а размер генома коррелирует с количеством и повторяющейся и уникальной ДНК, правда, в разных таксонах по-разному. У млекопитающих в целом, у та-

ких растений, как *Allium*, *Anemone* и у некоторых сложноцветных, размер генома увеличивается практически пропорционально увеличению количества и повторов, и неповторяющейся ДНК (см. рис. 32, а также: [Hutchinson et al., 1980]). У амфибий, жуков-кожееда *Dermestes*, растений (*Lathyrus*, *Lolium* и злаковые) размер генома растет в основном (но не полностью) за счет повторов, а у моллюсков и некоторых грызунов — за счет уникальных последовательностей [Hutchinson et al., 1980]. Однако если, например, у жуков вариация в количестве ДНК четко коррелирует с вариацией в количестве гетерохроматина, то у амфибий, во-первых, гетерохроматина не так много, а во-вторых, его количество варьирует слабо [Schmid, 1978a, b].

Таким образом, вопрос о молекулярной организации и функциях гетерохроматина чрезвычайно запутан и перегружен никак еще не объясненной информацией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из изложенного материала ясно, что мы еще очень мало знаем о структуре, организации и функциях генома, путях и темпах эволюции генетического материала как на молекулярном, так и на надмолекулярном уровне. Появляющиеся время от времени гипотезы, призванные объяснить те или иные непонятные факты и явления, приводят в систему знания тех лет, дают мощные стимулы для дальнейших уже направленных исследований. Сыграв свою положительную роль, эти гипотезы под напором новых фактов постепенно утрачивают свои позиции и заменяются новыми. В истории изучения явления наследственности и изменчивости можно проследить постепенный переход от исследований на уровне организма (фенотипическом уровне) к клеточному, субклеточному (хромосомному) и далее молекулярному уровню. На всех этапах оставались свои нерешенные (в некоторых случаях до сих пор) проблемы. Каждый последующий уровень должен был решить проблемы предыдущего, но это не всегда удавалось. В данной книге также предпринята попытка взглянуть с молекулярного уровня на проблемы субклеточного уровня.

В свете обсуждаемого в книге материала основными, на взгляд автора, нерешенными проблемами в генетике эукариот являются: причины возникновения, функции и эволюция избыточной ДНК, организация ДНК в хромосомах, механизмы сокращения и движения хромосом на стадиях клеточного цикла, молекулярные механизмы рекомбинации участков хромосом и ее регуляция, молекулярные механизмы образования и функция гетерохроматина. Кроме того, существуют проблемы, обсуждение которых выходит за рамки данной книги, например тонкая структура генов и негенных участков ДНК, особенности функционирования генома в онтогенезе и другие. Решение их в каждом конкретном случае требует углубленного исследования всех аспектов каждой проблемы. Возможно, что определенную помощь в этом окажет сделанное в этой книге объединение известных данных по исследованию тотального генома как на молекулярном, так и на надмолекулярном уровнях. Если автору удалось сделать такой

синтез, то можно считать, что основная цель, поставленная перед написанием этой книги, достигнута.

В заключение автор позволит себе привести некоторые соображения, возникшие в ходе изложения и обсуждения материала книги, в виде двух гипотез: о механизмах дифференциального окрашивания хромосом и о возникновении и функции избыточной ДНК у эукариот. (Соавтором обеих гипотез является Л. К. Гинатулина).

Гипотеза о механизмах дифференциального окрашивания хромосом

Известно, что метафазная хромосома состоит из плотно упакованных нитей ДНК, гистоновых и кислых белков. Если с помощью различных обработок препаратов удалить гистоны, то общая структура хромосом сохраняется достаточно хорошо. Недавние исследования [Laemmli et al., 1978; Wray et al., 1978; Mullinger, Johnson, 1980; и др.] показали существование каркаса или скелета хромосомы, который образован кислыми белками. Белковый каркас окружен латеральными петлями ДНК, которые исходят и обратно сходятся в некоторых узловых точках. Для хромосом мыши показано, что последовательности ДНК, прикрепленные к белковому каркасу в метафазе, остаются прикрепленными к нему и в интерфазе и являются повторяющимися, с частотой 50-60 тыс. [Razin et al., 1978; Мантьева и др., 1979; Разин и др., 1980]. При переходе от интерфазы к метафазе через ряд последовательных стадий узловые точки с прикрепленной к ним ДНК сближаются, а ДНК, не прикрепленная к белкам каркаса, остается относительно свободной (при удалении большей части гистонов и некоторых кислых белков эта «несвязанная» ДНК образует упомянутые выше петли). За счет такого механизма достигается значительное сокращение хромосомного материала на стадии метафазы. Если еще учесть спирализацию ДНК в нуклеосомах и нуклеосомных фибриллах, то степень общего сокращения ДНК в линейных размерах достигает 10 тыс. [Георгиев, Бакаев, 1978]. Рассмотрим теперь различные способы окрашивания хромосом и попробуем выяснить, какие изменения происходят при этом. Предположим, что при методах, включающих окраску хромосом красителем Гимзы, этот краситель связывается равномерно по всей длине ДНК.

При фиксации препаратов смесью метанол-уксусная кислота из хромосом удаляется часть гистонов, главным образом гистон H1 [Burkholder, Ducek, 1972b]. Уже при обычной

окраске в некоторых случаях выявляется неоднородность концентрации красителя по длине хромосомы (например у крысовидного хомячка [Борисов, Кораблев, 1978]).

При обработке хромосом различными реагентами, такими как SSC, мочевины, мочевины в смеси с NaCl, трипсин, с последующим окрашиванием красителем Гимза, получается характерный рисунок G-окраски. При этом удаляются негистоновые белки с молекулярной массой от 20 до 90 тыс. дальтонов [Burkholder, Duczek, 1972b]. Эта обработка является достаточно мягкой и можно предположить, что осевая структура хромосомы сохраняется интактной. В этом случае «несвязанная» ДНК большей частью разворачивается в виде беспорядочных петель, дающих слабый фон красителя, а места концентрации ДНК в узловых точках белкового каркаса являются местами концентрации красителя (G-сегменты).

Нагревание хромосом до 80—90 °C в солевом растворе приводит к появлению R-сегментов, противоположных по рисунку G-сегментам. В этих довольно жестких условиях обработки происходит значительная агрегация белков и интенсивное удаление гистона H1 [Burkholder, Duczek, 1972b]. При этом, по-видимому, нарушается связь ДНК с узловыми точками, т. е. разрушаются G-сегменты, а «несвязанная» ДНК вслед за агрегацией белков уплотняется и выявляется в виде R-сегментов. Это уплотнение не является упорядоченным, как, например, в G-сегментах, что, возможно, и отражается в более слабой интенсивности окраски хромосом. Методика R-окраски часто не дает воспроизводимых результатов [Захаров и др., 1982], по-видимому, по той причине, что денатурация и агрегация белков не является специфической, хотя и подчиняется изначальной архитектуре хромосомы. Увеличение продолжительности инкубации препаратов в горячем буферном растворе приводит к модификации R-окраски таким образом, что начинают выявляться теломерные районы многих хромосом (T-сегменты), которые более интенсивно красятся Гимза-красителем, чем R-сегменты. Из этого следует, что местом наиболее прочного связывания комплекса ДНК—белок (с мембраной?) является теломера хромосом. Это предположение согласуется с ранними результатами, полученными Стаблфилдом и Рэем [Stubblefield, Wray, 1971], которые обнаружили, что после гидродинамических воздействий и обработки солями или мочевиной высокой концентрации, когда удаляется 75—90% ДНК, концы хромосом остаются прикрепленными к ядерной мембране.

Более подробно остановимся на методе С-окраски. Метод заключается в том, что препараты предварительно отмытые в кислой среде, подвергают кратковременному воздействию щелочью (NaOH или $\text{Ba}(\text{OH})_2$) с последующей длительной инкубацией в нейтральном растворе при 60—65 °C. На С-окрашенных препаратах сохраняются контуры хромосом, имеющие слабую фоновую окраску, и появляются различной интенсивности С-сегменты. Чаще всего четкие С-сегменты расположены в прицентромерных районах хромосом, но могут быть и интеркалярные, и теломерные С-сегменты. С-сегменты являются местом локализации структурного гетерохроматина.

В главе 8 (§ 3) очень подробно рассматривался вопрос о структурном гетерохроматине и обнаруженных нами взаимоотношениях между гетерохроматином и молекулярной организацией генома, поэтому мы не будем останавливаться на этом, уделив больше внимания методу и механизмам С-окраски. Показано, что после инкубации препаратов в кислоте удаляется часть гистонов и негистоновых белков, а оставшиеся белки в значительной степени деградируют при дальнейшей инкубации в щелочном растворе (особенно в гидрате окиси бария) [Burkholder, Duczek, 1982b]. Этот факт, по-видимому, исключает (хотя и не полностью) участие белков в образовании С-сегментов. Тогда резонно предположить, что ДНК сама по себе формирует С-сегменты.

Существующая корреляция между длиной повторяющихся последовательностей и количеством С-гетерохроматина (глава 8) приводит к заключению, что механизм образования С-сегментов включает взаимодействие повторяющихся последовательностей и упорядоченную укладку их. Предположение об участии повторов в образовании С-сегментов не ново. Еще в начале 1970-х годов многие исследователи полагали, что образование С-сегментов происходит за счет реассоциации комплементарных повторяющихся последовательностей ДНК. Однако вскоре было показано, что значительная часть сателлитной ДНК остается однонитчатой даже после длительной инкубации [Kurnit, 1974]. Тем не менее, исходя из того, что ДНК после предобработок становится относительно подвижной, можно предположить, что все же различные слабые (относительно ковалентных) взаимодействия, такие как водородные, стэкинг, гидрофобные, способствуют сближению и параллельной укладке поперек хромосомы одинаковых последовательностей ДНК в виде пучка или стопки, подобно тому как некоторые синтетические полинуклеотиды образуют трех-, четырехнитевые структуры.

Возможно, что эти последовательности частично связаны с особо прочными белками остова хромосомы, что и обуславливает преимущественную концентрацию С-сегментов в одних и тех же местах хромосомы определенного вида. У некоторых видов С-гетерохроматин может быть уже изначально локализован в характерных для него участках хромосомы, что можно выявить при использовании фазово-контрастного микроскопа в виде плотных участков, совпадающих с районами С-сегментов (например, в хромосомах крысовидного хомячка [Картавцева, личн. сообщ.]). Эти же взаимодействия могут приводить к эктопическому спариванию гетерохроматических участков разных хромосом. Поскольку нити ДНК не полностью освобождаются от остова хромосомы, контуры хромосомы сохраняются при С-окраске.

Поскольку разрешающая способность светового микроскопа составляет 0,1—0,3 мкм, то понятно, что с его помощью невозможно увидеть пучка повторов с продольной длиной 300 п. н. (0,1 мкм), даже если эти участки образовали комплекс с красителем. Увидеть кластеры повторов можно лишь в том случае, если их длина превышает 1000 п. н. (0,3 мкм). Следовательно, можно предположить, что размер и интенсивность С-окраски определенных участков хромосом зависят от длины и количества повторяющихся последовательностей. Отсюда следует, что если в геноме какого-либо вида преобладают повторы короткой длины («Хепопустип» организации генома), то в микроскоп будут видны лишь те участки хромосом, которые содержат повторы, являющиеся более протяженными. Этот случай, по-видимому, отражает реально наблюдаемую картину С-окраски хромосом рыб, амфибий и некоторых млекопитающих, например человека и крысы, когда выявляется малое количество С-гетерохроматина при достаточном количестве повторов в геноме. Если же в геноме преобладают длинные («*Drosophila*-тип») или очень длинные, сателлитоподобные повторы, то С-окрашенные гетерохроматические участки будут выявляться в хромосомах в большом количестве.

Описанный механизм С-окраски хромосом позволяет объяснить парадокс *Cricetus cricetus* (главы 6, 8). Напомним, что хромосомы этого вида содержат очень большое количество С-гетерохроматина (34%). Тем не менее, доля повторов в его геноме почти не отличается от таковой других хомяков, в частности *Cricetulus barabensis*, содержащего около 10% С-гетерохроматина. Более того, кинетическая сложность (размер) генома

меньше у *Cricetus*, чем у других хомяков, последовательности ДНК организованы, как и у *C. barabensis*, по «Хепорустипу». Разница в организации генома у этих видов заключается в том, что период чередования повторяющихся и уникальных последовательностей у *Cricetus* менее 1,5 т. п. н., а у *C. barabensis* в 2 раза больше. Следовательно, короткие повторяющиеся последовательности у *Cricetus* разделены уникальными, размером около 1 т. п. н., а у *C. barabensis* — более 2 т. п. н. Предположим, что согласно нашей модели при С-окраске короткие повторы обоих видов образуют пучки одинаковой длины порядка 300—500 п. н. (размеры повторов следуют из данных по организации генома этих видов). В хромосомах *C. barabensis* из-за большой длины промежутка между повторами и короткой длины самих повторов мы практически не увидим (вернее увидим как слабый фон) в световой микроскоп ни пучков повторов, ни разделяющих их уникальных последовательностей, образующих беспорядочные нити. В хромосомах же *Cricetus* пучки повторов сближены в поперечном направлении за счет различных слабых взаимодействий, а в продольном направлении за счет малой длины уникальных последовательностей, контактирующих с повторами. В совокупности множество соседствующих пучков дает картину С-окраски. Этим можно объяснить более серую окраску С-гетерохроматина *Cricetus* по сравнению с таковой крысовидного хомячка или сусликов, характеризующихся длинным и сверхдлинным периодом интерсперсии последовательностей ДНК [Кораблев, личн. сообщ.].

Слабым звеном в предлагаемой модели С-окраски является то, что почти ничего неизвестно о силах, заставляющих взаимодействовать одинаковые последовательности ДНК с образованием пучка или стопки множества нитей на хромосоме. Не исключено, что в этом процессе участвуют какие-либо белки, устойчивые к действию щелочей при С-окраске.

Что же касается очень мягкой и почти не разрушающей структуру хромосом Q-окраски, то нужно, вероятно, согласиться с мнением большинства исследователей что она выявляет гетерогенность последовательностей по составу оснований. Q-сегменты содержат большей частью повторы, богатые А-Т парами [Sanchez, Yunis, 1974; Willey, Yunis, 1975], и часто совпадают с G-сегментами хромосом [Захаров и др., 1982].

Гипотеза о возникновении и функциях избыточной ДНК

Таким образом, можно предположить, что избыточная ДНК, по крайней мере повторяющаяся, определяет и сохраняет структуру хромосом и участвует в образовании компонентов тонкой структуры хромосом. Накапливается все больше данных об участии и уникальных последовательностей в процессах функционирования хромосом в цикле клеточного деления. Так, например, синтезирующая на стадии зиготены мейоза уникальная ДНК определяет точное спаривание гомологичных хромосом при конъюгации [см. Гершензон, 1979]. Несмотря на недостаток сведений о функциях большей части избыточной ДНК, можно предположить, что эта ДНК вовлечена у эукариот в работу хромосомного аппарата как такового. Это предположение основано на исключительной важности наличия у эукариот стройной мейотической и митотической систем.

Из учебников генетики известно, что в процессе эволюции различные мутации содействовали появлению организмов с новыми свойствами. Однако возникновение мутаций или тем более двух или нескольких полезных мутаций — событие чрезвычайной редкости, особенно при наличии в клетках мощной системы репарации. У бактерий частота мутаций составляет 10^{-5} — 10^{-7} , т. е. изменение генотипа, регистрируемое через изменение фенотипа, встречается у одной особи из 10^5 или 10^7 особей. Пришлось бы долго ждать, когда произойдет вторичная мутация (которая к тому же будет полезной) у высших организмов со значительно большей продолжительностью жизни, чем у бактерий.

В этом отношении гораздо более действен другой механизм, позволяющий переживать, а затем по-новому сочетать наследственные признаки родителей у потомков, т. е. механизм рекомбинации. Этот механизм, называемый половым процессом, или мейозом, характерен для эукариот. В диплоидных клетках имеются два набора хромосом: один происходит от матери, другой — от отца. Следовательно, при половом процессе материнский и отцовский геномы перераспределяются в потомках, возникают новые комбинации генов хромосом, значит происходит рекомбинация хромосом и генетической информации, содержащейся в них. Однако при половом процессе происходит не только рекомбинация хромосом, но и рекомбинация участков хромосом в результате кроссинговера. После крос-

синговера хроматиды хромосом уже не являются чисто женскими или мужскими — все перемешано. Ясно, что при посредстве полового процесса в результате мейоза значительно повышается изменчивость, а тем самым возможность отбора. Следовательно, благодаря половому процессу эволюция будет протекать намного быстрее, чем за счет одних только мутаций и митоза. У бактерий, правда, тоже бывают рекомбинации и конъюгация, но они происходят редко, «неуклюже» и не так стройно и обязательно, как у эукариот. Таким образом, приобретение организмами мейотической (и митотической) системы обусловило выход их на качественно новый уровень эволюционного развития. Однако мейоз (и митоз) стал возможен у эукариот только после возникновения способности хромосом сильно сокращаться в размерах по сравнению с «хромосомами» прокариот. Участием не только повторов, но и, возможно, части уникальных последовательностей в механизмах хромосомного сокращения и передвижения можно было бы объяснить наличие избытка ДНК у эукариот. В таком случае большое количество некодирующих последовательностей необходимо для существования хромосом и сложной мейотической (и митотической) системы и, следовательно, вполне оправдывается тем преимуществом в частоте рекомбинаций, которое дает эукариотам половой процесс.

Другая часть повторов или даже любой избыточной ДНК участвует, вероятно, в регуляции рекомбинации генов. Мы уже упоминали гипотезу Миклоша с соавторами [Miklos, Nankivell, 1976, Miklos, John, 1979; Yamamoto, 1979, Miklos, Gill, 1981], в некоторых случаях вполне доказанную, о том, что количество гетерохроматина (и связанной с ним сателлитной ДНК) влияет на частоту рекомбинации генов, расположенных вблизи него (глава 8). Вспомним также эффект положения генов из учебников генетики, когда встраивание постороннего фрагмента вблизи какого-либо гена или перенос гена в новое место оказывает влияние на проявление (экспрессию) гена. Однако гетерохроматин, как мы только что обсуждали, является лишь видимым в микроскоп частным, наиболее выраженным случаем наличия в хромосоме избыточной ДНК. Создается впечатление, что весьма эффективным средством помешать какому-либо гену или его аллелю, невыгодному в определенных условиях, рекомбинировать или уменьшить степень его выражения, является окружение гена (или даже встраивание внутрь гена) повторяющейся или неповторяющейся избыточной ДНК (в смысле некодирующей ДНК). Возможным механизмом изменения

окружения гена являются, по-видимому, амплификация, маг-
нификация, транспозиция или другие, неизвестные пока яв-
ления.

Как бы то ни было, уменьшая частоту рекомбинации
генов, организмы теряют эволюционную лабильность и ну-
жен механизм, обеспечивающий выброс избыточной ДНК
с данного участка хромосом и повышение способности реком-
бинировать расположенному здесь гену. Если утрачивается
механизм выброса избыточной ДНК, то виды могут зайти
в эволюционный тупик, как это, вероятно, случилось с двояко-
дышащими рыбами, хвостатыми амфибиями и др. В эво-
люции крупных таксонов, как мы видели выше (рис. 36),
увеличение количества ДНК ведет к уменьшению числа ви-
дов. Возможно, что это обусловлено как раз наличием
вокруг генов большого количества неинформативной ДНК
и малой степенью их рекомбинационной способности (за счет
нефенотипической, неэффективной рекомбинации участков
хромосом). В более низких таксонах, с низкой вариабель-
ностью в размерах геномов, эта закономерность может не
наблюдаться в заметных масштабах. По-видимому, для воз-
никновения новых видов нужно, чтобы их предки, более
генерализованные виды (по Хайнгарднеру [Hinegardner,
1976]), утратили часть избыточной ДНК (не участвующей
в обязательном порядке в работе хромосомного аппарата),
препятствующей рекомбинации генов, т. е. увеличению воз-
можности найти подходящее сочетание генов, наилучшее
в изменившихся условиях среды.

Для того чтобы геном был столь лабилен, чтобы так
вольно увеличивалась или утрачивалась избыточная ДНК,
что иногда можно наблюдать в виде изменений тонкой
структуры хромосом или в виде вставок различных последо-
вательностей ДНК внутрь гена, чтобы вообще могли возник-
нуть столь динамичные по структуре хромосомы, необходим
был механизм, сохраняющий относительно неизменными ко-
нечные продукты выражения гена. Такой механизм у эука-
риот есть — это сплайсинг. РНК-полимераза считывает очень
большой участок ДНК, содержащий весь структурный ген
и встроенные внутрь, а также расположенные вокруг него
некодирующие последовательности ДНК. Получается очень
громоздкая, так называемая гетерогенная ядерная РНК
(см. подробнее обзор: [Крамеров, 1982]). При процессинге,
т. е. созревании этой РНК, из нее удаляются все лишние
последовательности и в цитоплазму переходит зрелая мат-
ричная РНК, содержащая практически только кодирующие
последовательности. Вырезание лишних кусков и сшивание

нужных кусков РНК получило английское название «сплайсинг».

По нашему мнению, возникновение сплайсинга, т. е. механизма сохранения продуктов выражения гена при изменениях самого гена (как участка ДНК), — это есть то самое главное, что отличает эукариот от прокариот. Остальные же отличия являются следствием появления сплайсинга и отсюда приобретением организмами свободы изменения количества и локализации различных некодирующих последовательностей. Другими словами, первичным явлением, способствовавшим появлению эукариот, был механизм сплайсинга, а затем уже появился типичный хромосомный аппарат, половой процесс и то огромное многообразие эукариотических организмов, которое мы наблюдаем сейчас или о которых судим по палеонтологическим находкам.

ЛИТЕРАТУРА

- Адо Н. Д., Видута О. Д. Особенности кинетики реассоциации ДНК некоторых видов насекомых. — Тр. МГПИ им. В. И. Ленина, 1980, № 22, с. 110—121.
- Анбиндер Е. М. Сравнительная кариология ластоногих: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 1974.
- Анбиндер Е. М. Кариология и эволюция ластоногих. М.: Наука, 1980. 152 с.
- Антонов А. С. Экспериментальное обоснование некоторых концепций гено-систематики: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1973. 73 с.
- Антонов А. С. Геносистематика: Достижения, проблемы и перспективы. — Успехи соврем. биологии, 1974, т. 77, № 2, с. 31—47.
- Антонов А. С., Владыченская Н. С., Петров Н. Б. Выделение препаратов ДНК из тканей беспозвоночных животных и высших растений, фиксированных спиртом. — Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 1971, № 8, с. 137—142.
- Бердышев Г. Д., Проценко Н. А. Содержание нуклеиновых кислот у высших организмов. Киев: Вища шк., 1978.
- Бердышев Г. Д., Дуброва Ю. Е., Карпенчук К. Г. Строение, функции и эволюция генов. Киев: Наук. думка, 1980. 216 с.
- Борисов Ю. М. Гетерохроматин у крысовидного хомячка *Tscherskia triton* de Winton (Rodentia, Cricetidae). Сообщ. 2. — Цитология и генетика, 1978, т. 12, с. 250—255.
- Борисов Ю. М., Кораблев В. П. Гетерохроматин у крысовидного хомячка *Tscherskia triton* de Winton (Rodentia, Cricetidae). Сообщ. 1. — Цитология и генетика, 1978, т. 12, с. 130—133.
- Борисов Ю. М., Кораблев В. П., Картавцева И. В. и др. Добавочные хромосомы у крысовидного хомячка и его систематическое положение. — В кн.: II съезд Всесоюз. териол. о-ва: Тез. докл. М.: Наука, 1978, с. 13—14.
- Борхсениус С. Н., Белозерская Н. А., Меркулова Н. А., Воробьев В. И. Палиндромные, повторяющиеся и уникальные последовательности в ДНК макронуклеуса инфузории *Tetrachymena pyriformis* G. I. — Молекуляр. биология, 1978, т. 12, с. 676—688.
- Босток К., Самнер Э. Хромосома эукариотической клетки. М.: Мир, 1981. 600 с.
- Брыков В. А., Вольфсон В. Г., Мотренко Е. Г., Воробьев В. И. Уникальные и повторяющиеся нуклеотидные последовательности в геноме иглокожих. I. Организация нуклеотидных последовательностей различной степени множественности в ДНК иглокожих. — Молекуляр. биология, 1978, т. 12, с. 1299—1312.
- Вальехо-Роман К. М., Мирошниченко Г. П., Антонов А. С. Метод сопоставления полинуклеотидных последовательностей ДНК. — Молекуляр. биология, 1975, т. 9, вып. 4, с. 548—551.
- Ванюшин Б. Ф., Бердышев Г. Д. Молекулярно-генетические механизмы старения. М.: Медицина, 1977. 296 с.
- Васильев В. П. Хромосомные числа рыбообразных и рыб. — Вопр. ихтиологии, 1980, т. 20, вып. 3 (122), с. 307—422.

- Владыченская Н. С., Кедрова О. С. Молекулярные основы межвидовой гибридизации (на примере рыб сем. осетровых). — В кн.: Молекулярные основы геносистематики / Под ред. А. С. Антонова. М.: Изд-во МГУ, 1980, с. 216—233.
- Владыченская Н. С., Кедрова А. С., Антонов А. С. Кинетика реассоциации ДНК и особенности строения рыб. — Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 1975, № 7, с. 105—110.
- Владыченская Н. С., Кедрова О. С., Антонов А. С. Сравнение организации геномов близкородственных форм организмов на примере рыб рода *Coregonus*. — Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 1976, № 10, с. 15—20.
- Владыченская Н. С., Кедрова О. С., Петров Н. Б. Организация нуклеотидных последовательностей в геноме стерляди *Acipenser acipenser*. — Молекуляр. биология, 1980, т. 14, вып. 5, с. 986—1000.
- Владыченская Н. С., Кедрова О. С., Петров Н. Б. Строение генома панцирной щуки *Lepisosteus osseus* (костные ганоиды). — Молекуляр. биология, 1983, т. 17, вып. 2, с. 373—378.
- Владыченская Н. С., Мирошниченко Г. П., Вальехо-Роман К. М. и др. Особенности строения геномов некоторых позвоночных животных. — Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 1974, № 5, с. 108.
- Волубуев В. Т. Кариологический анализ трех сибирских популяций азиатской лесной мыши *Apodemus peninsulae* (Rodentia, Muridae). — Докл. АН СССР, 1979, т. 248, с. 1452—1454.
- Воронцов Н. Н. Строение языка палеарктических хомяков (Cricetinae). — Тр. ЗИН АН СССР, 1958а, т. 25, с. 321—335.
- Воронцов Н. Н. Значение изучения хромосомных наборов для систематики млекопитающих. — Бюл. МОИП. Отд. биол., 1958б, т. 63, № 2, с. 5—35.
- Воронцов Н. Н. Система хомяков (Cricetinae) мировой фауны и их филогенетические связи. — Бюл. МОИП. Отд. биол., 1959, т. 64, вып. 5, с. 134—139.
- Воронцов Н. Н. Эволюция кариотипа. — В кн.: Руководство по цитологии / Под ред. А. С. Трошина. М.; Л.: Наука, 1966, т. 2, с. 359—389.
- Воронцов Н. Н. Эволюция пищеварительной системы грызунов (мышеобразные). Новосибирск: Наука, 1967. 240 с.
- Воронцов Н. Н. Синтетическая теория эволюции: ее источники, основные постулаты и нерешенные проблемы. — Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1980, т. 25, № 3, с. 295—314.
- Воронцов Н. Н. Фауна СССР. Млекопитающие. Т. III, вып. 6. Низшие хомякообразные (Cricetidae) мировой фауны. Ч. I. Морфология и экология. Л.: Наука, 1982. 451 с.
- Воронцов Н. Н., Жолнеровская Е. И., Баранов О. К. Иммуносистематика сусликов Палеарктики (*Citellus*, *Sciuridae*, *Rodentia*). I. Экспериментальные данные. — Зоол. журн., 1980, т. 59, вып. 10, с. 1517—1529.
- Воронцов Н. Н., Ляпунова Е. А. Хромосомы сусликов Палеарктики (*Citellus*, *Marmotinae*, *Sciuridae*, *Rodentia*). — В кн.: Млекопитающие: Эволюция, кариология, фаунистика, систематика / Под ред. Н. Н. Воронцова. Новосибирск: Наука, 1969, с. 41—47.
- Воронцов Н. Н., Ляпунова Е. А. Хромосомные числа и видообразование у беличьих (*Sciuridae*, *Xerinae* et *Marmotinae*) Голарктики. — Бюл. МОИП. Отд. биол., 1970, т. 75, № 3, с. 112.
- Воронцов Н. Н., Ляпунова Е. А. Цитогенетические доказательства существования закавказско-сонорских дизъюнкций ареалов некоторых млекопитающих. — Зоол. журн., 1972, т. 51, вып. 11, с. 1697—1703.
- Воронцов Н. Н., Ляпунова Е. А. Генетика и проблемы трансберингийских связей голарктических млекопитающих. — В кн.: Берингийская суша и ее значение для развития голарктических флор и фаун в кайнозойе / Под ред. В. Л. Контримавичуса. М.: Наука, 1976, с. 357.

- Воронцов Н. Н., Раджабли С. И. Хромосомы и видовая самостоятельность *Tscherskia albipes* Ognev (Rodentia—Cricetinae). — В кн.: Млекопитающие: Эволюция, кариология, фаунистика и систематика / Под ред. Н. Н. Воронцова. Новосибирск: Наука, 1969, с. 96—97.
- Высоцкая Л. В., Тутурова К. Ф. Повторяющиеся нуклеотидные последовательности, гетерохроматин и содержание ДНК у некоторых видов саранчовых. — Изв. СО АН СССР. Сер. биол. наук, 1981, вып. 2, с. 95—101.
- Гаврилов В. Ю., Мазо М. А. Математические исследования кинетики реассоциации случайно дробленной ДНК. — Молекуляр. биология, 1977, т. 11, вып. 1, с. 101—106.
- Газарян К. Г., Гольцов В. А., Тарантул В. З. и др. Размер и организация повторяющихся последовательностей в геноме голубя. — Биохимия, 1982, т. 47, вып. 1, с. 71—80.
- Газарян К. Г., Кузнецова Е. Д., Тарантул В. З., Забойкина Т. Н. Выделение и характеристика двух транскрибирующих семейств повторяющихся последовательностей генома голубя. — Молекуляр. биология, 1977, т. 11, с. 1010—1021.
- Газарян К. Г., Тарантул В. З. Успехи в изучении генов у эукариот. — Онтогенез, 1980, т. 11, № 2, с. 115—129.
- Гвоздев А. А. Организация генома у эукариотов. — Молекуляр. биология, 1978, т. 12, вып. 1, с. 5—35.
- Генетическая инженерия: (Методы) / Под ред. А. А. Баева. М.: ВИНТИ, 1980. 304 с. (Итоги науки и техники. Молекуляр. биология; Т. 12. Ч. II).
- Георгиев В. П. Гипотеза о структурной организации оперона и регуляции синтеза РНК в животной клетке. — Молекуляр. биология, 1970, т. 4, вып. 1, с. 17—29.
- Георгиев Г. П., Бакаев В. В. Три уровня структурной организации хромосом эукариот. — Молекуляр. биология, 1978, т. 12, с. 1205—1230.
- Гершензон С. М. Основы современной генетики. Киев: Наук. думка, 1979. 506 с.
- Гинатулин А. А. Организация нуклеотидных последовательностей в геномах некоторых видов позвоночных: Дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 1981. 252 с.
- Гинатулин А. А., Гинатулина Л. К. Структура генома позвоночных. — В кн.: Эволюционные исследования / Под ред. В. А. Красиловой. Владивосток, 1979а, с. 110—128.
- Гинатулин А. А., Гинатулина Л. К. Различные типы организации нуклеотидных последовательностей в ДНК позвоночных. — В кн.: XIV Тихоокеан. науч. конгр.: Тез. докл. М.: Наука, 1979б, с. 158—159.
- Гинатулин А. А., Гинатулина Л. К. Колонка для жидкостной хроматографии: А. с. № 935787 (СССР), опубл. 16.06.1982. Бюл. 22.
- Гинатулин А. А., Гинатулина Л. К., Борисов Ю. М., Ляпунова Е. А. Изучение повторяющихся последовательностей ДНК млекопитающих с помощью кинетики реассоциации и связь их со структурой хромосом. — В кн.: V Всесоюз. симпоз. по структуре и функции клеточ. ядра: Тез. докл. Новосибирск: Наука, 1975, с. 69.
- Гинатулин А. А., Гинатулина Л. К., Борисов Ю. М. и др. Исследование кинетики реассоциации ДНК разнохромосомных форм слепушонок (*Ellobius*) в связи с вопросом о путях перестройки хромосом в эволюции. — Молекуляр. биология, 1977, т. 11, вып. 4, с. 883—890.
- Гинатулин А. А., Гинатулина Л. К., Воронцов Н. Н., Тимофеева М. Я. Дрозофильный тип организации нуклеотидных последовательностей генома курицы *Gallus domesticus*. — Докл. АН СССР, 1979, т. 244, № 4, с. 1018—1021.
- Гинатулина Л. К. Сравнительное исследование молекулярной структуры

- генома млекопитающих разного таксономического ранга в связи с некоторыми особенностями кариотипа: Дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 1982. 309 с.
- Глазков М. В., Медников Б. М. Динамичность структуры генома в процессе сперматогенеза крыс. — Докл. АН СССР, 1980, т. 250, № 1, с. 205—207.
- Гольцов В. А., Мазо М. А., Тарантул В. З., Газарян К. Г. Реассоциация перемежающихся умеренных повторов ДНК. — Молекуляр. биология, 1979, т. 13, вып. 2, с. 355—362.
- Графодатский А. С., Григорьев О. В., Исаенко А. А. G- и C-окраска хромосом и количество ДНК обыкновенного ужа (*Natrix natrix*). — Зоол. журн., 1979, т. 58, вып. 7, с. 1074—1076.
- Графодатский А. С., Лушникова Т. П., Ромащенко А. Г., Раджабли С. И. Цитологическая локализация повторяющихся последовательностей ДНК у трех видов млекопитающих. — Генетика, 1981, т. 17, № 11, с. 1983—1987.
- Графодатский А. А., Терновский Д. В., Исаенко А. А., Раджабли С. И. Структурный гетерохроматин и количество ДНК в группе видов кунцеобразных (*Mustelidae*, *Carnivora*). — Генетика, 1977, с. 13, № 12, с. 2123—2128.
- Громов И. М. Отряд грызуны. — В кн.: Млекопитающие фауны СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1963.
- Громов И. М., Бибиков Д. И., Калабухов Н. И., Мейер М. Н. Фауна СССР. Млекопитающие. *Marmotinae*. М.; Л.: Наука, 1965. Т. 3. Вып. 2.
- Дарлингтон С. Д., ЛаКур Л. Ф. Хромосомы: Методы работы. М.: Атомиздат, 1980. 216 с.
- Дубинин Н. П. Проблема гена в свете молекулярной организации эукариотов и прокариотов. — Успехи соврем. биологии, 1979, т. 87, № 3, с. 331—344.
- Захаров А. С. Дифференциальная окрашиваемость хромосом. Феномен и механизмы. — Успехи соврем. биологии, 1975, т. 80, вып. 3 (6), с. 335—350.
- Картавец Ю. Ф., Картавец И. В., Воронцов Н. Н. Популяционная генетика и геногеография диких млекопитающих. Сообщ. 5. Сравнение изменчивости и сходства аллоферментов у палеарктических хомяков (*Rodentia*, *Cricetini*). — Генетика, 1984.
- Картавец И. В., Борисов Ю. М., Ляпунова Е. А. и др. Добавочные хромосомы у крысовидного хомячка (*Tscherskia triton*) и его систематическое положение. — Зоол. журн., 1980, т. 59, вып. 6, с. 899—904.
- Косюк Г. Н., Борхсениус С. Н. Внутрипопуляционные различия в структурах геномов у двух лососевых рыб. — Молекуляр. биология, 1981, т. 15, вып. 3, с. 547—553.
- Крамеров Д. А. Организация генома и единицы транскрипции у высших организмов. — В кн.: Структурная организация и функция генома эукариот. М.: ВИНТИ, 1982, с. 4—56. (Итоги науки и техники. Биол. химия; Т. 16).
- Красилов В. А. Роль случайности в эволюции. — В кн.: Эволюционные исследования / Под ред. В. А. Красилова. Владивосток, 1979, с. 7—19.
- Куприянова Н. С., Тимофеева М. Я. Характеристика промежуточной фракции повторяющихся последовательностей ДНК. — Молекуляр. биология, 1973, т. 7, с. 140—150.
- Куприянова Н. С., Тимофеева М. Я., Баев А. А. Обнаружение и некоторые характеристики палиндромов генома вьюна. — Молекуляр. биология, 1976, т. 10, с. 412—422.
- Куприянова Н. С., Тимофеева М. Я., Баев А. А. Организация генома вьюна *Misgurnus fossilis* L. — В кн.: Сов.-герман. симпоз.: Тез. докл. Баку, 1977.

- Левонтин Р. Генетические основы эволюции. М.: Мир, 1978. 352 с.
- Лим В. И., Мазанов А. Л. О роли палиндромных последовательностей в формировании третичной структуры молекулы ДНК. — Докл. АН СССР, 1976, т. 231, с. 492—494.
- Ломов А. А. Организация нуклеотидных последовательностей в ДНК черепахи *Testudo horsfieldi*. — Докл. АН СССР, 1981, т. 261, № 5, с. 1267—1271.
- Ляпунова Е. А. Кариология рода *Ellobius*. — В кн.: I Междунар. териол. конгр. М.: Наука, 1974, т. I, 380—381.
- Ляпунова Е. А., Воронцов Н. Н. Генетика слепушонок (*Ellobius*, Rodentia). Сообщ. 1. Кариологическая характеристика четырех видов рода *Ellobius*. — Генетика, 1978, т. 14, № 12, с. 2012—2024.
- Ляпунова Е. А., Гинатулин А. А., Гинатулина Л. К. и др. В кн.: II съезд Всесоюз. териол. о-ва: Тез. докл. М.: Наука, 1978, с. 29—30.
- Ляпунова Е. А., Якименко Л. В. Частичная репродуктивная изоляция между разнохромосомными формами обыкновенной слепушонки. — В кн.: Тез. докл. V Всесоюз. совещ. по грызунам. Саратов, 1980, с. 25—26.
- Мазо М. А. Влияние случайного дробления ДНК на кинетику реассоциации повторяющихся последовательностей. — Молекуляр. биология, 1978, т. 12, вып. 2, с. 457—462.
- Мантьева В. Л., Разин С. В., Георгиев Г. П. Выделение фракции ДНК, прилегающей к остову метафазной хромосомы, и изучение ее ренатурационных свойств. — Молекуляр. биология, 1979, т. 13, с. 1360—1368.
- Медников Б. М. О реальности высших систематических категорий позвоночных животных. — Журн. общ. биологии, 1974, т. 35, № 5, с. 659—665.
- Медников Б. М. Происхождение и эволюция нуклеиновых кислот. — Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1980, т. 25, № 4, с. 425—431.
- Мирошниченко Г. П., Антонов А. С., Гилева Э. А. Сравнительное изучение ДНК копытных леммингов *Dicrostonyx torquatus chionopaes* Allen с различным количеством В-хромосом. — Молекуляр. биология, 1978, т. 12, с. 1348—1358.
- Мирошниченко Г. П., Вальехо-Роман К. М., Антонов А. С. Кинетика реассоциации ДНК представителей класса Liliatae. — Докл. АН СССР, 1974, т. 214, № 5.
- Мирошниченко Г. П., Галимова Л. М., Мокеева В. Л. Исследование кинетики реассоциации ДНК грибов *Penicillium cyclopium* Westl. и *Pluteus cervinus* (Fr. ex Schaef.) Quel. — Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 1979, № 12, с. 40—44.
- Молекулярные основы геносистематики / Под ред. А. С. Антонова. М.: Изд-во МГУ, 1980. 272 с.
- Навашин М. С. Хромосомы и видообразование. — Ботан. журн., 1957, т. 42, с. 1615—1634.
- Нейфах А. А., Тимофеева М. Я. Молекулярная биология процессов развития. М.: Наука, 1977. 312 с.
- Нейфах А. А., Тимофеева М. Я. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития. М.: Наука, 1978. 337 с.
- Обручев Д. В. Бесчелюстные рыбы. — В кн.: Основы палеонтологии / Под ред. Ю. А. Орлова. М.: Наука, 1964.
- Омельченко В. Т., Герасименко Т. П. О молекулярной организации геномов и диплоидно-тетраплоидных соотношениях кижуча и сельди. — Генетика, 1981, т. 17, № 2, с. 338—347.
- Оно С. Генетические механизмы прогрессивной эволюции. М.: Мир, 1973.
- Орлов В. Н. Кариосистематика млекопитающих. М.: Наука, 1974. 208 с.
- Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот. Электрофорез и ультрацентрифугирование: (Практ. пособие). М.: Наука, 1981. 288 с.

- Петров Н. Б. Методы изучения реассоциации ДНК. — В кн.: Молекулярные основы геносистематики. М.: Изд-во МГУ, 1980, с. 51—77.
- Петров Н. Б., Алешин В. В. Организация последовательностей ДНК у стрекоз *Aeshna squamata* Mull и *Calopteryx splendens* Harr. — Докл. АН СССР, 1982, т. 262, № 3, с. 729—732.
- Петров Н. Б., Антонов А. С. Характеристика молекулярной организации геномов некоторых двустворчатых моллюсков. — Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 1974, № 12, с. 101.
- Петров Н. Б., Полтараус А. Б., Антонов А. С. Геном погоноформы *Sibolium fiordicum*: характеристика организации и дивергенция относительно геномов представителей некоторых типов беспозвоночных животных. — Молекуляр. биология, 1980, т. 14, вып. 2, с. 429—438.
- Прима В. И., Платонов О. Н., Газарян К. Г. Анализ реассоциации фракций ДНК крысы. — Биохимия, 1980, т. 45, вып. 3, с. 498—506.
- Прокофьева-Бельговская А. А. Гетерохроматические районы хромосом: Строение и функции. — Журн. общ. биологии, 1977, т. 38, № 5, с. 735—756.
- Раджабли С. И. Кариотипическая дифференциация хомяков Палеарктики (*Rodentia*, *Cricetinae*). — Докл. АН СССР, 1975, т. 225, № 3, с. 697—700.
- Раджабли С. И., Графодатский А. С. Эволюция кариотипа млекопитающих (структурные перестройки хромосом и гетерохроматин). — В кн.: Цитогенетика гибридов, мутаций и эволюция кариотипа / Под ред. В. В. Хвостовой. Новосибирск: Наука, 1977, с. 231—248.
- Расс Т. С., Линдберг Г. У. Современные представления о естественной системе рыб. — Вопр. ихтиологии, 1971, т. 11, вып. 3, с. 380—407.
- Ромер А. Ш. Палеонтология позвоночных. М.; Л.: ГОНТИ, 1939.
- Рысков А. П. Двуспиральные структуры и комплементарные последовательности в ядерных предшественниках мРНК. — Успехи соврем. биологии, 1978, т. 86, с. 163—176.
- Строение ДНК и положение организмов в системе / Под ред. А. Н. Белозерского, А. С. Антонова. М.: Изд-во МГУ, 1972, 328 с.
- Тарантул В. З., Гольцов В. А., Кузнецова Е. Д. Структурная организация генома эукариот. — В кн.: Итоги науки и техники. Молекуляр. биология. М.: ВИНТИ, 1982, т. 19, с. 7—83.
- Тарантул В. З., Николаев А. И., Сивак С. А., Газарян К. Г. Молекулярная организация генома голубя: Обнаружение кластеров, состоящих из протяженных гомополимеров и коротких палиндромных последовательностей. — Молекуляр. биология, 1979, т. 13, вып. 6, с. 1296—1302.
- Тимофеева М. Я., Кафиани К. А. Нуклеиновые кислоты неоплодотворенных яиц и развивающихся зародышей выюна. — Биохимия, 1964, т. 29, вып. 1, с. 110—115.
- Тимофеева М. Я., Эйсер Г. И., Куприянова Н. С. Сравнительное исследование повторяющихся последовательностей нуклеотидов в ДНК дифференцированных и малигнизированных тканей. — Молекуляр. биология, 1975, т. 9, с. 126—133.
- Тимофеев-Ресовский Н. В., Воронцов Н. Н., Яблоков А. В. Краткий очерк теории эволюции. 2-е изд. М.: Наука, 1977. 297 с.
- Фомичева И. И., Воронцов Н. Н. Электрофоретическое исследование белковых фракций сыворотки крови некоторых видов хомяков (*Cricetinae*, *Rodentia*). — Зоол. журн., 1973, т. 52, вып. 3, с. 416—423.
- Шнеер В. С., Антонов А. С. Исследование кинетики реассоциации ДНК растений из семейства касатиковых. — Науч. докл. высш. шк. Биол. науки, 1976, № 8, с. 23—26.
- Яблоков А. В., Белькович В. М., Борисов В. И. Киты и дельфины. М. Наука, 1972. 472 с.

- Яблоков А. В., Юсуфов А. Г. Эволюционное учение. — М.: Высш. шк., 1981. 344 с.
- Якименко Л. В., Воронцов Н. Н. Морфометрическая и морфотипическая изменчивость слепушенок надвида *Ellobius talpinus* в пределах ареала. — В кн.: Грызуны: Материалы V Всесоюз. совещ. по грызунам. Саратов, 1980, с. 139—140.
- Якименко Л. В., Воронцов Н. Н. Морфотипическая изменчивость кариологически дифференцированных популяций слепушенок надвида *Ellobius talpinus*. — В кн.: Фенетика популяций. М.: Наука, 1982. 296 с.
- Alvarez M. C., Cano I., Thode G. DNA content and chromosome complement of *Chromis chromis* (Pomacentridae, Perciformes). — *Caryologia*, 1980, vol. 33, p. 267—274.
- Ananiev E. V., Gvozdev V. A., Ilyin Yu. V. et al. Reiterated genes with varying location in intercalary heterochromatin regions of *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes. — *Chromosoma*, 1978, vol. 70, p. 1—17.
- Angerer R. C., Davidson E. H., Britten R. J. DNA sequence organization in the mollusc *Aplysia californica*. — *Cell*, 1975, vol. 6, p. 29—40.
- Angerer R. C., Davidson R. H., Britten R. J. Single copy DNA and structural gene sequence relationship among four sea urchin species. — *Chromosoma*, 1976, vol. 56, p. 213—226.
- Arnason U. Comparative chromosome studies in Pinnipedia. — *Hereditas*, 1974b, vol. 76, p. 179—226.
- Arnason U. Comparative chromosome studies in Cetacea. — *Hereditas*, 1974a, vol. 77, p. 1—36.
- Arnason U., Benirschke K., Mead J. G., Nichols W. W. Banded karyotypes of three whales: *Mesoplodon europaeus*, *M. carlhubbsi* and *Balaenoptera acutorostrata*. — *Hereditas*, 1977, vol. 87, N 2, p. 189—200.
- Arrighi F. E. Mammalian chromosomes. — In: The cell nucleus / Ed. H. Busch. N. Y.; L.: Acad. press, 1974, vol. 2, p. 1—32.
- Arrighi F. E., Bergendahl J., Mandel M. Isolation and characterization of DNA from fixed cells and tissues. — *Exp. Cell Res.*, 1968, vol. 50, p. 47—53.
- Arrighi F. E., Hsu T. C. Localization of heterochromatin in human chromosomes. — *Cytogenetics*, 1971, vol. 10, N 1, p. 81—86.
- Arrighi F. E., Hsu T. C., Pathak S., Sawada H. The sex chromosomes of the chinese hamster: constitutive heterochromatin deficient in repetitive DNA sequences. — *Cytogenet. and Cell Genet.*, 1974, vol. 13, p. 268—274.
- Arthur R. R., Straus N. A. DNA-sequence organization in the genome of the domestic chicken (*Gallus domesticus*). — *Canad. J. Biochem.*, 1978, vol. 56, p. 257—263.
- Atkin N. B., Mattison G., Beçak W., Ohno S. The comparative DNA content of 19 species of placental mammals, reptiles and birds. — *Chromosoma*, 1965, vol. 17, p. 1—10.
- Atkin N. B., Ohno S. DNA values of four primitive chordates. — *Chromosoma*, 1967, vol. 23, N 1, p. 10—13.
- Avvedimento V. E., Acquaviva A. M., Varrone S. Sequence organization of porcine DNA. — *Nucl. Acids Res.*, 1976, vol. 3, p. 2491—2505.
- Ayala F. J. — *Sci. Amer.*, 1978, vol. 239, N 3, p. 48—61. (Айяла Ф. Дж. Механизмы эволюции. — Журн. Всесоюз. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева, 1980, т. 25, № 3, с. 277—294).
- Bachmann K. Feulgen slope determination of Urodele nuclear DNA amounts. — *Histochemie*, 1970a, vol. 22, p. 289—293.
- Bachmann K. Specific nuclear DNA amounts in toads of the genus *Bufo*. — *Chromosoma*, 1970b, vol. 29, p. 365—374.
- Bachmann K. Genome size in Mammals. — *Chromosoma*, 1972, vol. 37, p. 85—93.

- Bachmann K., Blommer-Schlösser R. Nuclear DNA amounts of the frog of Madagascar. — Zool. Anz., 1975, Bd. 194, H. 1/2, S. 13—21.
- Bachmann K., Goin O. B., Goin C. J. The nuclear DNA of *Polypterus palmas*. — Copeia, 1972a, vol. 2, p. 363—365.
- Bachmann K., Harrington B. A., Craig J. P. Genome size in birds. — Chromosoma, 1972b, vol. 37, p. 405—416.
- Bachmann K., Konrad A., Oeldorf E., Hemmer H. Genome size in the green toad (*Bufo viridis*) group. — Experientia, 1978, vol. 34, N 3, p. 331—332.
- Bachmann K., Nishioka M. Genome size in Palaearctic frogs (*Rana*). — Copeia, 1978, N 2, p. 225—229.
- Bachmann K., Price H. J. Repetitive DNA in Cichorieae (Compositae). — Chromosoma, 1977, vol. 61, p. 267—275.
- Baldari T., Amaldi F. DNA reassociation kinetics in relation to genome size in four amphibian species. — Chromosoma, 1976, vol. 59, N 1, p. 13—22.
- Baldari T., Amaldi F. Length and interspersed of repetitive and non repetitive DNA sequences in four amphibian species with different genome sizes. — Chromosoma, 1977, vol. 61, p. 359—368.
- Bayen M., Dalman J. Determination physico-chimique de la ploidie chez l'algue unicellulaire *Chlorella pyrenoidosa* (souche 211/8b). — Biochim. et biophys. acta, 1975, vol. 395, p. 213—219.
- Bazetoux S., Jouanin L., Huguet T. Characterization of inverted sequences in wheat nuclear DNA. — Nucl. Acids Res., 1978, vol. 5, p. 751—769.
- Beamish R. J., Merrilees M. J., Crossman E. J. Karyotypes and DNA values for members of suborder Esocoidae (Osteichthyes: Salmoniformes). — Chromosoma, 1971, vol. 34, p. 436—447.
- Beauchamp R. C., Pasternak J., Straus N. A. Characterization of the genome of the free-living nematode *Panagrellus silusiae* absence of short period interspersed. — Biochemistry, 1979, vol. 18, p. 245—250.
- Beçak W., Beçak M. L., Schreiber G. et al. Interspecific variability of DNA content in Amphibia. — Experientia, 1970, vol. 26, p. 204—206.
- Bell A. J., Hardmann N. Characterization of foldback sequences in hamster DNA using electron microscopy. — Nucl. Acids Res., 1977, vol. 4, p. 247—268.
- Bengtsson B. O. Rates of karyotype evolution in placental mammals. — Hereditas, 1980, vol. 92, p. 37—47.
- Benirschke K., Wurster D. H., Cow R. J., Atkin N. B. The chromosome complement of the armadillo, *Oryzomys ather*. — Chromosoma, 1970, vol. 31, p. 68—78.
- Bick J. A. E., Jackson W. D. DNA content of monotremes. — Nature, 1967, vol. 215, p. 192—193.
- Biezunski N. Structure and distribution of inverted repeats (palindromes). I. Analysis of DNA of *Drosophila melanogaster*. — Chromosoma, 1981a, vol. 84, p. 87—109.
- Biezunski N. Structure and distribution of inverted repeats (palindromes). II. Analysis of DNA of the mouse. — Chromosoma, 1981b, vol. 84, p. 111—129.
- Biro R. A., Carr-Brown A., Southern E. M., Walker P. M. B. Partial sequence analysis of mouse satellite DNA: evidence for short range periodicities. — J. Mol. Biol., 1975, vol. 94, N 1, p. 71—86.
- Bonner T. J., Brenner D. J., Neufeld B. R., Britten R. J. Reduction in the rate of DNA reassociation by sequence divergence. — J. Mol. Biol., 1973, vol. 81, p. 123—135.
- Borchsenius S. N., Beloserskaya N. A., Mergulova N. A. et al. Genome structure of *Tetrachymena pyriformes*. — Chromosoma, 1978, vol. 69, p. 275—289.
- Bozzoni I., Beccari E. Clustered and interspersed repetitive DNA sequences

- in four amphibian species with different genome size. — *Biochim. et biophys. acta*, 1978, vol. 520, p. 245—252.
- Britten R. J.* Repeated sequences in human DNA. — *Carnegie Inst. Wash. Yearbook*, 1969, vol. 67, p. 337.
- Britten R. J., Davidson E. H.* Gene regulation for higher cells: a theory. — *Science*, 1969, vol. 165, p. 349—357.
- Britten R. J., Davidson E. H.* Repetitive and non-repetitive DNA sequences and a speculation on the origins of evolutionary novelty. — *Quart. Rev. Biol.*, 1971, vol. 46, N 2, p. 111—133.
- Britten R. J., Davidson E. H.* DNA sequence arrangement and preliminary evidence on its evolution. — *Fed. Proc.*, 1976a, vol. 35, p. 2151—2157.
- Britten R. J., Davidson E. H.* Studies on nucleic acid reassociation kinetics: empirical equations describing DNA reassociation. — *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 1976b, vol. 73, p. 415—419.
- Britten R. J., Graham D. E., Eden F. C. et al.* Evolutionary divergence and length of repetitive sequences in sea urchin DNA. — *J. Mol. Evol.*, 1976, vol. 9, N 1, p. 1—23.
- Britten R. J., Graham D. E., Neufeld B. R.* Analysis of repeating DNA sequences by reassociation. — In: *Methods in enzymology* / Ed. L. Grossman, K. Moldave. N. Y.: Acad. press, 1974, vol. 25 E, p. 363—418.
- Britten R. J., Kohne D. E.* Nucleotide sequence repetition in DNA. — *Carnegie Inst. Wash. Yearbook*, 1967, vol. 65, p. 78—106.
- Britten R. J., Kohne D. E.* Repeated sequences in DNA. — *Science*, 1968, vol. 161, p. 529—540.
- Britten R. J., Smith J.* A bovine genome. — *Carnegie Inst. Wash. Yearbook*, 1970, vol. 68, p. 378—386.
- Brown D. D., Dawid I. B.* Specific gene amplification in oocytes. — *Science*, 1968, vol. 160, p. 272—280.
- Brykov V. A., Volfson V. G., Vorob'ev V. L.* Genome structure and divergence on nucleotide sequences in Echinodermata. — *Chromosoma*, 1979, vol. 74, p. 105—124.
- Burkholder G. D., Duczek L. L.* The effect of the chromosome banding techniques on the histone and nonhistone proteins of isolated chromatin. — *Canad. J. Biochem.*, 1982, vol. 60, p. 328—337.
- Bush G. L., Case S. M., Wilson A. C., Patton J. L.* Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals. — *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 1977, vol. 74, N 9, p. 3942—3946.
- Cairns J.* The chromosome of *E. coli*. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1963, vol. 28, p. 43—46.
- Cano J., Alvares M. C., Thode G. Munoz.* Phylogenetic interpretation of chromosomal and nuclear-DNA-content data in the genus *Blennius* (Blenniidae, Perciformes). — *Genetica*, 1982, vol. 58, N 1, p. 11—16.
- Carlson M., Brutlag D. L.* A gene adjacent to satellite DNA in *Drosophila melanogaster*. — *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 1978, vol. 75, N 12, p. 5898—5902.
- Cech T. R., Hearst J. E.* An electron microscopic study of mouse foldback DNA. — *Cell*, 1975, vol. 5, p. 429—446.
- Cech T. R., Hearst J. E.* Organization of highly repeated sequences in mouse main-band DNA. — *J. Mol. Biol.*, 1976, vol. 100, p. 227—256.
- Chamberlin M. E., Britten R. J., Davidson E. H.* Sequence organization in *Xenopus* DNA studied by the electron microscope. — *J. Mol. Biol.*, 1975, vol. 96, p. 317—333.
- Chaudhary N. C., Craig S. P.* The evolution of the long and short repetitive DNA sequences in sea urchins. — *Biochim. et biophys. acta*, 1979, vol. 562, p. 438—452.
- Chiarelli A. B., Capanna E.* Checklist of fish chromosomes: Editors review. —

- In: Cytotaxonomy and vertebrate evolution / Ed. A. B. Chiareli, E. Capanna. L.; N. Y.: Acad. press, 1973, p. 205—232.
- Christie N. T., Skinner D. M.* Interspersion of highly repetitive DNA with single copy DNA in the genome of the red crab *Gerion quinquedens*. — *Nucl. Acids Res.*, 1979, vol. 6, p. 781—796.
- Cimino M. C.*, The nuclear DNA content of diploid and triploid *Poeciliopsis* and other *Poeciliid* fishes with reference to the evolution of unisexual forms. — *Chromosoma*, 1974, vol. 47, N 3, p. 297—307.
- Cimino M. C., Bahr G. F.* The nuclear DNA content and chromatine ultrastructure of the coelacanth *Latimeria chalumnae*. — *Exp. Cell Res.*, 1974, vol. 88, p. 263—272.
- Comings D. E., Avelino E.* DNA loss during Robertsonian fusion in studies of the tobacco mouse. — *Nature, New Biol.*, 1972, vol. 237, p. 199.
- Comings D. E., Mattoccia E.* DNA of mammalian and avian heterochromatin. — *Exp. Cell Res.*, 1972, vol. 71, p. 113—131.
- Conger A. D., Clinton J. H.* Nuclear volumes. DNA contents and radiosensitivity in whole-body-irradiated amphibians. — *Radiat. Res.*, 1973, vol. 54, N 1, p. 69—101.
- Cooke H. J.*, Evolution of the long range structure of satellite DNAs in the genus *Apodemus*. — *J. Mol. Biol.*, 1975, vol. 94, N 1, p. 87—99.
- Costantini F. D., Scheller R. H., Britten R. J., Davidson E. H.* Repetitive sequence transcript in the mature sea urchin oocyte. — *Cell*, 1978, vol. 15, p. 173—187.
- Crain W. R., Davidson E. H., Britten R. J.* Contrasting pattern of DNA sequence arrangement in the *Apis mellifera* (honeybee) and *Musca domestica* (housefly). — *Chromosoma*, 1976b, vol. 59, p. 1—12.
- Crain W. R., Eden F. C., Pearson W. R. et al.* Absence of short period interspersion of repetitive and nonrepetitive sequences in the DNA of *Drosophila melanogaster*. — *Chromosoma*, 1976a, vol. 59, p. 309—326.
- Cullis C. A.* The basis of cell-to-cell transformation in *Paramecium bursaria*. — *J. Cell Sci.*, 1972, vol. 11, p. 611—619.
- Cullis C. A.* DNA sequence organization in the flax genome. — *Biochim. et biophys. acta*, 1981, vol. 652, N 1, p. 1—15.
- Cullis C. A., Schweizer D.* Repetitions DNA in some *Anemone* species. — *Chromosoma*, 1974, vol. 44, p. 417—421.
- Cummings D. J.* Studies on macronuclear DNA from *Paramecium aurelia*. — *Chromosoma*, 1975, vol. 53, p. 191—208.
- Davidson E. H., Britten R. J.* Organization, transcription and regulation in animal genome. — *Quart. Rev. Biol.*, 1973, vol. 48, p. 565—613.
- Davidson E. H., Britten R. J.* Regulation of gene expression: possible role of repetitive sequences. — *Science*, 1979, vol. 204, p. 1052—1059.
- Davidson E. H., Galau G. A., Angerer C. S., Britten R. J.* Comparative aspects of DNA organization in Metazoa. — *Chromosoma*, 1975, vol. 51, p. 253—259.
- Davidson E. H., Graham D. E., Neufeld B. R. et al.* Arrangement and characterization of repetitive sequence elements in animal DNA. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1974, vol. 38, p. 295—301.
- Davidson E. H., Hough B. R., Amenson C. S., Britten R. J.* General interspersion of repetitive with non-repetitive sequence elements in the DNA of *Xenopus*. — *J. Mol. Biol.*, 1973, vol. 77, N 1, p. 1—23.
- Davidson E. H., Hough B. R., Chamberlin M. E., Britten R. J.* Sequence repetition in the DNA of *Nassaria (Ilyanassa) obsoleta*. — *Develop. Biol.*, 1971, vol. 25, N 3, p. 445—463.
- Davidson E. H., Klein W. H., Britten R. J.* Sequence organization in animal DNA and a speculation on hnRNA as a coordinate regulatore transcript. — *Develop. Biol.*, 1977, vol. 55, p. 69—84.

- Deaven L. L., Vidal-Rioja L., Jett J. N., Hsu T. C. Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae). VI. The genomic size. — *Cytogenet. and Cell Genet.*, 1977, vol. 19, p. 241—249.
- Deininger P. L., Schmid C. W. A study of the evolution of repeated DNA sequences in primates and the existence of a new class of repetitive sequences in primates. — *J. Mol. Biol.*, 1979, vol. 127, p. 437—460.
- Deininger P. L., Schmid C. W. An electron microscope study of the DNA sequence organization of the human genome. — *J. Mol. Biol.*, 1976a, vol. 106, N 3, p. 773—790.
- Deininger P. L., Schmid C. W. Thermal stability of human DNA and chimpanzee DNA heteroduplexes. — *Science*, 1976b, vol. 194, p. 846—848.
- Deumling B. Localization of foldback DNA sequences in nuclei and chromosomes of *Scilla*, *Secale* and mouse. — *Nucl. Acids Res.*, 1978, vol. 5, p. 3589—3602.
- Dhillon S. S., Rake A. V., Mikshe J. P. Reassociation kinetics and cytophotometric characterization of peanut (*Arachis hypogaea* L.) DNA. — *Plant Physiol.*, 1980, vol. 65, p. 1121—1127.
- Donehower L., Gillespie D. Restriction site periodicities in highly repetitive DNA of primates. — *J. Mol. Biol.*, 1979, vol. 134, p. 805—834.
- Dons J. J. M., Vessels J. G. H. Sequence organization of the nuclear DNA of *Schisophyllum communae*. — *Biochim. et biophys. acta*, 1980, vol. 607, p. 385—396.
- Doolittle W. F. Evolutionary molecular biology: where is it going? — *Canad. J. Biochem.*, 1982, vol. 60, N 2, p. 83—90.
- Doolittle W. F., Sapienza C. Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution — *Nature*, 1980, vol. 284, p. 601—603.
- Dott P., Chuang C., Saunders G. Inverted repetitive sequences in the human genome. — *Biochemistry*, 1976, vol. 15, p. 4120—4125.
- Dührssen E., Neumann K.-H. Characterization of satellite-DNA of *Daucus carota* L. — *Ztschr. Pflanzenphysiol.*, 1980, Bd. 100, S. 447—454.
- Ebeling A. W., Atkin N. B., Setzer P. J. Genome sizes of teleostean fishes: increases in some deep sea species. — *Amer. Natur.*, 1971, vol. 105, N 946, p. 549—561.
- Eden F. C., Hendrick J. P. Unusual organization of DNA sequences in the chicken. — *Biochemistry*, 1978, vol. 17, p. 5838—5844.
- Eden F. C., Hendrick J. P., Gottlieb S. S. Homology of single copy and repeated sequences in chicken, duck, Japanese quail and ostrich DNA. — *Biochemistry*, 1978, vol. 17, p. 5113—5121.
- Edström J. E., Gall J. G. The base composition of ribonucleic acids in cambium chromosomes nucleoli, nuclear sap and cytoplasm of *Triturus* oocytes. — *J. Cell Biol.*, 1963, vol. 19, p. 279—284.
- Efstratiadis A., Crain W. R., Britten R. J., Davidson E. H. DNA sequence organization in the Lepidopteran *Antheraea pernyi*. — *Proc. Nat. Acad. Sci US*, 1976, vol. 73, N 7, p. 2289—2293.
- Ellerman J. R. The families and genera of living rodent. — *Brit. Mus. Nat. Hist.*, 1941, vol. 2, 690 p.
- Endow S. A., Polan M. L., Gall J. G. Satellite DNA sequences of *Drosophila melanogaster*. — *J. Mol. Biol.*, 1975, vol. 96, p. 665—692.
- Epplen J. T., Diedrich U., Wagenmann M. et al. Contrasting DNA sequence organization patterns in Sauropsidian genomes. — *Chromosoma*, 1979, vol. 75, p. 199—214.
- Epplen J. T., Leipoldt M., Engel W., Schmidtke J. DNA sequence organization in avian genomes. — *Chromosoma*, 1978, vol. 69, p. 307—321.
- Firtel R. A., Kindle K. Structural organization of the genome of the cellular slime mold *Dictyostelium discoideum*: interspersed repetitive and single-copy DNA sequences. — *Cell*, 1975, vol. 5, p. 401—411.

- Flavell R. B., Bennett M. D., Smith J. B., Smith D. B. Genome size and the proportion of repeated nucleotide sequence DNA in plants. — *Biochem. Genet.*, 1974, vol. 12, N 4, p. 257—269.
- Flavell R. B., Rimpau J., Smith D. B. Repeated sequence DNA relationship in four cereal genomes. — *Chromosoma*, 1977, vol. 63, p. 205—222.
- Flavell R. B., Smith D. B. Nucleotide sequence organization in the wheat genome. — *Heredity*, 1976, vol. 37, p. 231—252.
- Fontana F. Nuclear DNA content and cytometry of erythrocytes of *Huso huso* L., *Acinenser sturio* L. and *Acinenser naccarii* Bonaparte. — *Caryologia*, 1976, vol. 29, N 1, p. 127—138.
- Formenti D. Nuclear DNA content in some species of the genus *Cercopithecus* (Primates: Cercopithecidae). — *Genetics*, 1975, vol. 45, p. 307—313.
- French C. K., Manning J. E. DNA sequence organization in the *Thysanura Thermobia domestica*. — *J. Mol. Evol.*, 1980, vol. 15, p. 277—289.
- Fry K., Salser W. Nucleotide sequences of HS- α satellite DNA from kangaroo rat *Dipodomys ordii* and characterization of similar sequences in other rodents. — *Cell*, 1977, vol. 12, p. 1069—1084.
- Fuhrmann B., Nagl W. Chromatin organization and repetitive DNA in *Anacyclus* and *Anthemis* (Asteraceae). — *Plant Syst. and Evol.*, 1979, suppl. 2, p. 235—245.
- Gage L. P. The *Bombyx mori* genome: analysis by DNA reassociation kinetics. — *Chromosoma*, 1974, vol. 45, N 1, p. 27—42.
- Gage L. P., Friedlander E., Manning R. F. Interspersion of inverted and middle repeated sequences within the genome of the silk-worm *Bombyx mori*. — In: *Molec. Mech. Contr. Gene Express* / Ed. D. P. Nierlich. N. Y. etc., 1976, vol. 5, p. 593—598.
- Galau G. A., Chamberlin M. E., Hough B. R. et al. Evolution of the repetitive and non-repetitive DNA. — In: *Molecular evolution* / Ed. F. E. Ayala. Sanderland, Mass.: Sinauer Assoc., 1976, p. 200—224.
- Gall J. G. The genes for ribosomal RNA during oogenesis. — *Genetics*, 1968, vol. 61, suppl., pt 2, p. 121—132.
- Gamperl R., Ehmann Ch., Bachmann K. Genome size and heterochromatin variation in rodents. — *Genetica*, 1982, vol. 58, N 3, p. 199—212.
- Gamperl R., Vistorin G., Rozencranz W. A comparative analysis of the karyotype of *Cricetus cricetus* and *Cricetulus griseus*. — *Chromosoma*, 1976, vol. 55, p. 259—265.
- Gamperl R., Vistorin G., Rozencranz W. Comparison of chromosome banding patterns in five members of *Cricetinae* with comments of possible relationships. — *Caryologia*, 1978, vol. 31, N 3, p. 343—353.
- Gasaryan K. G., Kuznetsova E. D., Tarantul V. Z., Sivak S. A. Purification and characterization of two transcribed repetitive DNA fractions from the pigeon genome. — *Chromosoma*, 1977, vol. 61, p. 381—394.
- Georgiev G. P. On the structural organization of operon and the regulation of RNA synthesis in animal cells. — *J. Theor. Biol.*, 1969, vol. 25, p. 473—490.
- Georgiev G. P., Varshavsky A. J., Ryskov A. P., Church R. B. On the structural organization of the transcriptional unit in animal chromosomes. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1974, vol. 38, p. 869—884.
- Gharret A. J., Simon R. C., McIntyre J. D. Reassociation and hybridization properties of DNAs from several species of fish. — *Comp. Biochem. and Physiol. B*, 1977, vol. 56, N 1, p. 81—85.
- Ginatulin A. A., Ginatulina L. K., Kupriyanova N. S. et al. Comparative analysis of DNA sequence organization in the vertebrate genomes. — *Genetica*, 1980, vol. 52 / 53, p. 119—126.
- Ginatulin A. A., Ginatulina L. K., Vorontsov N. N. Genome analysis of ground squirrels of the genus *Citellus* (Rodentia, Sciuridae). II. DNA sequence organization. — *Genetica*, 1983, vol. 62, N 2, p. 117—128.

- Ginatulina L. K., Ginatulin A. A., Lyapunova E. A., Vorontsov N. N.* Genome analysis of ground squirrels of the genus *Citellus* (Rodentia, Sciuridae). I. DNA reassociation kinetics and genome size of eight species. — *Genetica*, 1982, vol. 59, N 3, p. 211—221.
- Ginatulina L. K., Ginatulin A. A., Vorontsov N. N.* The molecular structure of the mammalian genome. — *Genetica*, 1980, vol. 52/53, p. 127—138.
- Ginelli E., Corneo G.* The organization of repeated DNA sequences in the human genome. — *Chromosoma*, 1976, vol. 56, p. 55—58.
- Ginelli E., Dilemnia R., Corneo G.* The organization of DNA sequences in the mouse genome. — *Chromosoma*, 1977, vol. 61, p. 215—226.
- Goldberg R. B.* DNA sequence organization in the soybean plant. — *Biochem. Genet.*, 78, vol. 16, p. 45—68.
- Goldberg R. B.* Structural gene expression in tobacco. — In: *Genome organization and expression in plants* / Ed. C. J. Leaver. Plenum Publ. Corp., 1980, p. 117—126.
- Goldberg P. B., Crain W. R., Ruderman J. V. et al.* DNA sequence organization in the genomes of five marine invertebrates. — *Chromosoma*, 1975, vol. 51, p. 225—251.
- Goldstein P., Straus N. A.* Molecular characterization of *Ascaris suum* DNA and chromatin diminution. — *Exp. Cell Res.*, 1978, vol. 116, p. 462—466.
- Gosden J. R., Buckland R. A., Clayton R. P., Evans H. J.* Chromosomal localization of DNA sequences in condensed and dispersed human chromatin. — *Exp. Cell Res.*, 1975, vol. 92, p. 138—147.
- Gosden J. R., Mitchell A. R.* Characterization of DNA from condensed and dispersed human chromatin. — *Exp. Cell Res.*, 1975, vol. 92, p. 131—137.
- Graham D. E., Neufeld B. R., Davidson E. H., Britten R. J.* Interspersion of repetitive and non repetitive DNA sequences in the sea urchin genome. — *Cell*, 1974, vol. 1, p. 127—137.
- Graham D. E., Schanke K. E.* Interspersion of repetitive with nonrepetitive sequences in an amphibian, *Rana berlandieri*. — *Nucl. Acids Res.*, 1980, vol. 8, N 17, p. 3878—3894.
- Gropp A., Winking H., Zech L., Müller H.* Robertsonian chromosomal variation and identification of metacentric chromosomes in feral mice. — *Chromosoma*, 1972, vol. 39, N 3, p. 265—288.
- Gupta V. S., Garde S. R., Ranjekar P. K.* Novel DNA sequence organization in rice genome. — *Biochim. et biophys. acta*, 1981, vol. 656, p. 147—154.
- Gurly W. B., Hepbern A. G., Key J. L.* Sequence organization of the soybean genome. — *Biochim. et biophys. acta*, 1979, vol. 561, p. 167—187.
- Hake S., Walbot V.* The genome of *Zea mays*, its organization and homology to related grasses. — *Chromosoma*, 1980, vol. 79, p. 251—270.
- Hanham A., Smith M. J.* Sequence organization in the genomic DNA of the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. — *Canad. J. Zool.*, 1979, vol. 57, p. 1878—1886.
- Hanham A., Smith M. J.* Sequence homology in the single-copy DNA of salmon. — *Comp. Biochem. and Physiol. B*, 1980, vol. 65, p. 333—338.
- Hardman N., Jack P. L., Fergie R. C., Gerrie L. M.* Sequence organisation in nuclear DNA from *Physarum polycephalum*. — *Europ. J. Biochem.*, 1980, vol. 103, N 2, p. 247—257.
- Hardman N., Jack P. L., Fergie R. C., Gerrie L. M.* Sequence organization *Physcomitres blakesleeanae*. — *Chromosoma*, 1979, vol. 73, p. 143—151.
- Harshey R. M., Jarayam M., Chamberlin M. E.* DNA S Distribution of inverted repeat sequences in nuclear DNA from *Physarum polycephalum*. — *Europ. J. Biochem.*, 1979, vol. 94, p. 179—187.
- Hatch F. T., Bodner A. J., Mazrimas J. A., Moore D. N., jun.* Satellite DNA and cytogenetic evolution. DNA quantity, satellite DNA and karyotypic variations in kangaroo rats (genus *Dipodomys*). — *Chromosoma*, 1976, vol. 58, p. 155—168.

- Helleiner C. W., Huh T. Y., Sangster S. M.* Satellites and rapidly reassociating fractions in the DNA of Gadidae (codfishes). — *Comp. Biochem. and Physiol. B.* 1974, vol. 48, N 1, p. 11—24.
- Hennig W., Walker P. M. B.* Variations in the DNA from rodent families (Cricetidae and Muridae). — *Nature*, 1970, vol. 225, p. 915—919.
- Hernandez O., Los Angeles de B. M., Rosado A.* The human spermatozoa genome. Analysis of DNA reassociation kinetics. — *Biochim. et biophys. acta*, 1978, vol. 521, p. 557—565.
- Hinegardner R. T.* Evolution of cellular DNA content in Teleost fishes. — *Amer. Natur.*, 1968, vol. 102, p. 517—523.
- Hinegardner R.* An improved fluorometric assay for DNA. — *Anal. Biochem.*, 1971, vol. 39, p. 197—201.
- Hinegardner R., Rosen D. E.* Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. — *Amer. Natur.*, 1972, vol. 106, p. 621—644.
- Hinegardner R.* The cellular DNA content of sharks, rays and some other fishes. — *Comp. Biochem. and Physiol. B.*, 1976a, vol. 55, N 3, p. 367—370.
- Hinegardner R.* Evolution of genome size. — In: *Molecular evolution* / Ed. F. E. Ayala. Sanderland, Mass.: Sinauer Assoc., 1976b, p. 179—199.
- Hinnebush A. G., Klotz L. C., Immergut E., Loeblich A. R.* III. Deoxyribonucleic acid sequence organization in the genome of the dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii*. — *Biochemistry*, 1980, vol. 19, p. 1744—1755.
- Hollaund C. A., Skinner D. M.* The organization of the main component DNA of a Crustacean genome with a paucity of middle repetitive sequences. — *Chromosoma*, 1977, vol. 63, p. 223—240.
- Houck C. M., Rinehart F. P., Schmid C. W.* Fractionation of renatured repetitive human DNA according to thermal stability, sequence length and renaturation rate. — *Biochim. et biophys. acta*, 1978, vol. 518, N 1, p. 37—52.
- Houck C. M., Rinehart F. P., Schmid C. W.* A ubiquitous family of repeated DNA sequences in the human genome. — *J. Mol. Biol.*, 1979, vol. 132, p. 289—306.
- Hough-Evans B. R., Jacob-Lorena M., Cummings M. R. et al.* Complexity of RNA in eggs of *Drosophila melanogaster* and *Musca domestica*. — *Genetics*, 1980, vol. 95, p. 81—94.
- Hourcade D., Dressler D., Wolfson J.* The nucleolus and rolling circle. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1973, vol. 38, p. 537—549.
- Hsu T. C., Arrighi F. E.* Distribution of constitutive heterochromatin in mammalian chromosomes. — *Chromosoma*, 1971, vol. 34, p. 243—253.
- Hudspeth M. E. S., Timberlake W. B., Goldberg R. B.* DNA sequence organization in the water mold *Achlya*. — *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 1977, vol. 76, p. 4332—4336.
- Hutchinson J., Narayan R. K. J., Rees H.* Constraints upon the composition of supplementary DNA. — *Chromosoma*, 1980, vol. 78, p. 137—145.
- Hutton J. R., Wetmur J. G.* Effect of chemical modification on the rate of renaturation of deoxyribonucleic acid and high molecular weight nuclear ribonucleic acid. — *Biochemistry*, 1973, vol. 13, p. 841—848.
- Igo-Kemenz W. T., Zachau H. G.* — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1978, vol. 42, p. 109—118.
- Ilyin Y. V., Tchurikov N. A., Ananiev E. V. et al.* Studies on the DNA fragments of mammals and *Drosophila* containing structural genes and adjacent sequences. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1978, vol. 42, p. 959—970.
- Ivanov I. G., Markov G. G.* On the heterogeneity of the slow reassociating («unique») DNA. — *Mol. Cell Biochem.*, 1978, vol. 20, p. 111—118.
- Iyengar G. A. S., Gaddipati J. P., Sen S. K.* Characteristics of nuclear DNA in the genus *Oryza*. — *Theor. Appl. Genet.*, 1979, vol. 54, p. 219—224.

- Jagodzynski L. L., Castro C. E., Sherrod P. et al. Reassociation kinetics of non-histon-bound DNA-sites. — *J. Biol. Chem.*, 1979, vol. 254, p. 3038—3044.
- Jagodzynski L. L., Chilton J. C., Sevall J. S. DNA-binding nonhiston proteins: DNA site reassociation. — *Nucl. Acids Res.*, 1978, vol. 5, N 5, p. 1487—1499.
- Jantzen H. Änderung des Genaktivitätsmusters während der Entwicklung von *Acanthamoeba castellanii*. — *Arch. Mikrobiol.*, 1973, Bd. 91, S. 163—178.
- Jimenez de E. S., Gonzales J. L., Domingues J. L., Saloma E. S. Characterization of DNA from differentiated cells. Analysis of the chicken genomic complexity. — *Europ. J. Biochem.*, 1974, vol. 45, p. 25—29.
- John B., Freeman M. Causes and consequences of Robertsonian exchange. — *Chromosoma*, 1975, vol. 52, p. 123—136.
- Jones K. W. Chromosomal and nuclear location of mouse satellite DNA in individual cells. — *Nature*, 1970, vol. 255, p. 912—915.
- Jones K. W. Repetitive DNA sequences in animals particularly primates. — *Chromosomes today*, 1976, vol. 5, p. 305—313.
- Kamalay J. C., Ruderman J. V., Goldberg R. B. DNA sequence repetition in the genome of the american oyster. — *Biochim. et biophys. acta*, 1976, vol. 432, p. 121—128.
- Kato H. Preferential occurrence of sister chromatid exchanges of heterochromatin-euchromatin junctions in the wallaby and hamster chromosomes. — *Chromosoma*, 1979, vol. 74, p. 307—316.
- Kiper M., Herzfeld F. DNA sequence organization in the genome of *Petrocelinum sativum* (Umbellifera). — *Chromosoma*, 1978, vol. 65, p. 335—351.
- Kleinschmidt A. K. Monolayer techniques in electron microscopy of nucleic acid molecules. — In: *Methods in enzymology* / Ed. L. Grossman, K. Moldave. Acad. press., 1968, vol. 12B, p. 361—376.
- Kohne D. E. Evolution of higher-organism DNA. — *Quart. Rev. Biophys.*, 1970, vol. 33, p. 327—375.
- Krassilov V. A. Directional evolution: a new hypothesis. — *Evol. Theory*, 1980, vol. 4, p. 203—220.
- Krumlauf R., Marzluf G. A. Characterization of the sequence complexity and organization of the *Neurospora crassa* genome. — *Biochemistry*, 1979, vol. 18, p. 3705—3713.
- Kuprijanova N. S., Timofeeva M. Ya. Repeated nucleotide sequences in loach genome. — *Europ. J. Biochem.*, 1974, vol. 44, p. 59—65.
- Laemmly U. K., Cheng S. M., Adolf K. W. et al. Metaphase chromosome structure: the role of non-histone proteins. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1978, vol. 42, pt 1, p. 351—360.
- Laird C. D. Chromatid structure: relationship between DNA content and nucleotide sequence diversity. — *Chromosoma*, 1971, vol. 32, p. 378—406.
- Laird C. D., McCarthy B. J. Molecular characterization of the *Drosophila* genome. — *Genetics*, 1969, vol. 63, p. 865—882.
- Laird C. D., McConaughy B. L., McCarthy B. J. Rate of fixation of nucleotide substitution in evolution. — *Nature*, 1969, vol. 224, p. 149.
- Lambert C. C., Laird C. D. Molecular properties of Tunicate DNA. — *Biochim. et biophys. acta*, 1971, vol. 240, p. 39—45.
- Lagowski J. M., Yu M. J., Forrest H. S., Laird C. D. Dispersity of repeated DNA sequences in *Oncopeltus fasciatus* an organism with diffuse centromeres. — *Chromosoma*, 1973, vol. 43, N 4, p. 349.
- Leipoldt M., Eckhardt R., Schmid M. Comparative DNA / DNA reassociation kinetics in three hamster species. — *Comp. Biochem. and Physiol. B*, 1982, vol. 72, N 3, p. 385—391.
- Lyapunova E. A., Ginatulina L. K., Korablev V. P. et al. Intrageneric divergence in DNA and heterochromatin content in ground squirrels of genus *Citellus*. — *Genetica*, 1980, vol. 52 / 53, p. 229—237.

- Lyapunova E. A., Vorontsov N. N.* Chromosomes and some issues of the evolution of the ground squirrel genus *Citellus* (Rodentia, Sciuridae). — *Experientia*, 1970, vol. 26, p. 1033—1038.
- Macgregor H. C., Jones C.* Chromosomes, DNA sequences and evolution in salamanders of the genus *Aneides*. — *Chromosoma*, 1977, vol. 63, N 1, p. 1—9.
- Macgregor H. C., Kezer J.* Gene amplification in oocytes with 8 germinal vesicles from the tailed frog *Ascaphus trui* Stejneger. — *Chromosoma*, 1970, vol. 29, p. 189—206.
- Macgregor H. C., Klosterman L.* Observations on the cytology of *Bipes* (Amphibia) with special reference to its lampbrush chromosomes. — *Chromosoma*, 1979, vol. 72, N 1, p. 67—87.
- Macgregor H. C., Uzzell T. M., jun.* Gynogenesis in salamander related to *Ambystoma jeffersonianum*. — *Science*, 1964, vol. 143, p. 1043—1045.
- Maio J. J., Brown F. L., Musich P. R.* Subunit structure of chromatin and the organization of eukaryotic highly repetitive DNA: recurrent periodicities and models for the evolutionary origin of repetitive DNA. — *J. Mol. Biol.*, 1977, vol. 117, p. 637—655.
- Maio J. J., Brown F. L., Musich P. R.* The relationship among inverted repeat or foldback DNAs, hnRNAs and the highly repetitive alphoid satellite DNAs of human and primate genomes. — *J. Cell Biol.*, 1979, vol. 86, N 2, pt 2, p. 191.
- Makino S.* Karyotype of *Tscherskia triton* (Muridae-Cricetidae). — *Kromosomo* (Tokyo), 1951, vol. 8, p. 311—312.
- Manfredi Romanini M. G.* Nuclear DNA content and area of primate lymphocytes as a cytotaxonomical tool. — *J. Hum. Evol.*, 1972, vol. 1, p. 23—40.
- Manfredi Romanini M. G.* The DNA nuclear content and the evolution of vertebrates. — In: *Cytotaxonomy and vertebrate evolution* / Ed. A. V. Chiarelli, E. Capanna. L.; N. Y.: Acad. press, 1973, p. 39—81.
- Manfredi Romanini M. G., Pellicciari C., Bolchi F., Capanna E.* Données nouvelles sur le contenu ADN des noyaux post-kinétiques chez les chiroptères. — *Mammalia*, 1975, vol. 39, p. 675—683.
- Manning J. E., Schmid C. W., Davidson N.* Interspersion of repetitive and nonrepetitive DNA sequences in the *Drosophila melanogaster* genome. — *Cell*, 1975, vol. 4, p. 141—155.
- Marmur J.* A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms. — *J. Mol. Biol.*, 1961, vol. 3, p. 208—218.
- Martin P. G., Hayman D. L.* Quantitative comparisons between the karyotypes of Australian marsupials from three different superfamilies. — *Chromosoma*, 1967, vol. 20, p. 290—310.
- Marx K. A., Allen J. R., Hearst J. E.* Chromosomal localization by in situ hybridization of the repetitions human DNA families and evidence of their satellite DNA equivalents. — *Chromosoma*, 1976, vol. 59, N 1, p. 23—42.
- Marx K. A., Hearst J. E.* The two component kinetic analysis method. Evidence for two renaturing components in mouse satellite DNA and *Dipodomys ordii* HS-satellite DNA. — *J. Mol. Biol.*, 1975, vol. 98, p. 355—368.
- Marx K. A., Purdom I. F., Jones K. W.* Primate repetitive DNAs: evidence for new satellite DNAs and similarities in non-satellite repetitive DNA sequence properties. — *Chromosoma*, 1979, vol. 73, p. 153—161.
- Mascarello J. T., Mazrimas J. A.* Chromosomes of antelope squirrels (genus *Ammospermophilus*): a systematic banding analysis of four species with unusual constitutive heterochromatin. — *Chromosoma*, 1977, vol. 64, p. 207—217.
- Matthey R.* The chromosome formulae of Eutherian mammals. — In: *Cytotaxonomy and vertebrate evolution* / Ed. A. V. Chiarelli, E. Capanna. L.; N. Y.: Acad. press, 1973, p. 531—616.

- Matthey R.* Les chromosomes des Euthériens retrospective et nouvelles données. — *Mammals*, 1976, vol. 40, N 3, p. 446—453.
- Matthey R., Jottrand M.* Nouveau système polymorphe non-robertsonien chez des "Leggadas" (*Mus* sp.) de République Centrafricaine. — *Rev. suisse zool.*, 1970, vol. 77, N 3, p. 630—635.
- Mauro M. L., Micheli G.* DNA reassociation kinetics in diploid and phylogenetically tetraploid Cyprinidae. — *J. Exp. Zool.*, 1979, vol. 208, p. 407—416.
- Mayfield J. E., Ellison J. R.* The organization of interphase chromatin in *Drosophilidae*. The self adhesion of chromatin containing the same DNA sequences. — *Chromosoma*, 1975, vol. 52, N 1, p. 37—40.
- Mayfield J. E., McKenna J. F., Lessa B. C.* The sequence organization of bovine DNA. — *Chromosoma*, 1980, vol. 76, p. 277—294.
- Mazin A. L., Sulimova G. E., Vanyushin B. F.* Granulated hydroxyapatite preparation and chromatographic properties. — *Anal. Biochem.*, 1974, vol. 61, p. 62—71.
- Mazin A. L., Birshtein V. J., Alexandrovskaya T. O.* Karyotype and genome size of *Pelodytes caucasicus* (Amphibia, Pelobatidae). — *Genetica*, 1980, vol. 54, N 1, p. 75—77.
- Mazrimas J., Hatch F. T.* A possible relationship between satellite DNA and the evolution of kangaroo rat species (genus *Dipodomys*). — *Nature. New Biol.*, 1972, vol. 240, N 99, p. 102—105.
- McLachlan A., Gillespie D. A. F., Hardman N.* Properties of middle repeat sequences in nuclear deoxyribonucleic acid from baby-hamster kidney cell (BNK-21 / C13). — *Biochem. Soc. Trans.*, 1979, vol. 7, p. 663—665.
- McDonell M. W., Simon M. N., Studier F. W.* Analysis of restriction fragments of T7 DNA and determination of molecular weight by electrophoresis in neutral and alkaline gels. — *J. Mol. Biol.*, 1977, vol. 110, p. 119—146.
- McTavish C., Sommerville J.* Macronuclear DNA organization and transcription in *Paramecium primaurelia*. — *Chromosoma*, 1980, vol. 78, p. 147—164.
- Miklos G. L. G., Gill A. C.* The DNA sequences of cloned complex satellite DNAs from Hawaiian *Drosophila* and their bearing on satellite DNA sequence conservation. — *Chromosoma*, 1981, vol. 82, p. 409—427.
- Miklos G. L. G., John B.* Heterochromatin and satellite DNA in man: properties and prospects. — *Amer. J. Hum. Genet.*, 1979, vol. 31, p. 264—280.
- Miklos G. L. G., Nankivell R. N.* Telomeric satellite DNA function regulating recombination. — *Chromosoma*, 1976, vol. 56, p. 143—167.
- Miklos G. L. G., Willcocks D. A., Baverstock P. R.* Restriction endonuclease and molecular analysis of three rat genomes with special reference to chromosome rearrangement and speciation problems. — *Chromosoma*, 1980, vol. 76, p. 339—363.
- Mirsky A. E., Ris H.* Variable and constant components of chromosomes. — *Nature*, 1949, vol. 163, p. 666—667.
- Mirsky A. E., Ris H.* The DNA content of animal cell and its evolutionary significance. — *J. Gen. Physiol.*, 1951, vol. 34, p. 451—462.
- Mizuno S., Andrews C., Macgregor H. C.* Interspecific «common» repetitive DNA sequences in salamanders of the genus *Plethodon*. — *Chromosoma*, 1976, vol. 58, N 1, p. 1—31.
- Mayazawa Y., Thomas C. A., jun.* Nucleotide composition of short segments of DNA molecules. — *J. Mol. Biol.*, 1965, vol. 11, p. 223—237.
- Mizuno S., Macgregor H. C.* Chromosomes, DNA sequences and evolution in salamanders of the genus *Plethodon*. — *Chromosoma*, 1974, vol. 48, p. 239—296.
- Moore G. P., Scheller R. H., Davidson E. H., Britten R. J.* Evolutionary change in the repetition frequency of sea urchin DNA sequences. — *Cell*, 1978, vol. 15, p. 649—660.

- Morescalchi A.* Amphibia. — In: Cytotaxonomy and vertebrate evolution / Ed. A. B. Chiarelli, E. Capanna. L.; N. Y.: Acad. press, 1973, p. 233—348.
- Morescalchi A.* Cytotaxonomy of the amphibians: new results. — *Genetica*, 1979, vol. 50, N 3, p. 179—193.
- Morescalchi A., Serra U.* DNA renaturation kinetics in some paedogenetic urodeles. — *Experientia*, 1974, vol. 30, N 5, p. 487—489.
- Moyzis R. K., Bonnet J., Li D. W., Ts'o P. O. P.* An alternative view of mammalian DNA sequence organization. I. Repetitive sequence interspersion in syrian hamster DNA: a model system. — *J. Mol. Biol.*, 1981a, vol. 153, p. 841—870.
- Moyzis R. K., Bonnet J., Li D. W., Ts'o P. O. P.* An alternative view of mammalian DNA sequence organization. II. Short repetitive sequences are organized into scrambled tandem clusters in syrian hamster DNA. — *J. Mol. Biol.*, 1981b, vol. 153, p. 871—896.
- Mullinger A. M., Johnson R. T.* Packing DNA into chromosomes. — *J. Cell Sci.*, 1980, vol. 46, p. 61—86.
- Murphy R. F., Pearson W. R., Bonner J.* Computer programmes for analysis of nucleic acid hybridization, thermal denaturation and gel electrophoresis data. — *Nucl. Acids Res.*, 1979, vol. 6, p. 3911—3921.
- Murray M. G., Cuellar R. E., Thompson W. F.* DNA sequence organization in the pea genome. — *Biochemistry*, 1978, vol. 17, p. 5781—5790.
- Murray M. G., Palmer J. D., Cuellar R. E., Thompson W. F.* Deoxyribonucleic acid sequence organization in the mung bean genome. — *Biochemistry*, 1979, vol. 18, p. 5259—5266.
- Musich P. R., Brown F. L., Maio J. J.* Highly repetitive component α - and related alphoid DNAs in man and monkeys. — *Chromosoma*, 1980, vol. 80, p. 331—348.
- Nadler C. F.* Chromosomes and systematics of american ground squirrels of the genus *Spermophilus*. — *J. Mammal.*, 1966, vol. 47, p. 579—596.
- Narayan R. K. J., Rees H.* Nuclear DNA variation in *Lathyrus*. — *Chromosoma*, 1976, vol. 54, p. 141—154.
- Ohno S.* So much «junk» DNA in our genome. — In: Evolution of genetic systems / Ed. H. H. Smith. N. Y.: Gordon and Breach, 1972, vol. 23, p. 366—370.
- Ohno S.* Cytogenetics of Chordates, Protochordates, Cyclostomes and Fishes. — In: Animal cytogenetics / Ed. B. John. Berlin; Stuttgart: Gebrii-der Borhtraeger, 1974.
- Ohno S., Atkin N. B.* Comparative DNA values and chromosome complements of eight species of fishes. — *Chromosoma*, 1966, vol. 18, p. 455—466.
- Ohno S., Muramoto J., Stenius C. et al.* Microchromosomes in holocephalian, chondrosteian and holostean fishes. — *Chromosoma*, 1969, vol. 26, p. 35—40.
- Ohno S., Wolf U., Atkin N. B.* Evolution from fish to mammals by gene duplication. — *Hereditas*, 1968, vol. 59, p. 169—187.
- Ojha M., Turler H., Turian G.* Characterization of *Allomyces* genome. — *Biochim. et biophys. acta*, 1977, vol. 478, p. 377—391.
- Olmo E.* Quantitative variations in the nuclear DNA and phylogensis of the amphibia. — *Caryologia*, 1973, vol. 26, N 1, p. 43—68.
- Olmo E.* Further data on the genome size in the Urodeles. — *Boll. zool.*, 1974, vol. 41, N 1, p. 29—33.
- Olmo E.* Genome size in some reptiles. — *J. Exp. Zool.*, 1976, vol. 195, p. 305—310.
- Olmo E.* Evolution of genome size and DNA base composition in reptiles. — *Genetica*, 1981, vol. 57, N 1, p. 39—50.
- Olmo E., Morescalchi A.* Evolution of the genome and cell sizes in salamanders. — *Experientia*, 1975, vol. 31, p. 804—806.

- Olmo E., Morescalchi A. Genome and cell size in frogs: a comparison with salamanders. — *Experientia*, 1978, vol. 34, N 1, p. 44—46.
- Olmo E., Stingo V., Odierna G., Capriglione T. Cryptic polyploidy in sharks and rays as revealed by DNA renaturation kinetics. — *Atti Accad. naz. Lincei*, 1980, vol. 68, fasc. 6, p. 555—560.
- Olmo E., Stingo V., Odierna G., Capriglione T. Sequence organization in the DNA of three selachians. — *Experientia*, 1982, vol. 38, p. 339—340.
- Olmo E., Stingo V., Odierna G., Cobror O. Variations in repetitive DNA and evolution in Reptiles. — *Comp. Biochem. and Physiol. B*, 1981, vol. 69, N 4, p. 687—691.
- Orgel L. E., Crick F. H. C. Selfish DNA: the ultimate parasite. — *Nature*, 1980, vol. 284, p. 604—607.
- Pardue M. L., Gall J. G. Chromosomal localization of mouse satellite DNA. — *Science*, 1970, vol. 168, p. 1356—1358.
- Pathak S., Hsu T. C., Arrighi F. E. Chromosomes of *Peromyscus* (Rodentia, Cricetidae). The role of heterochromatin in karyotypic evolution. — *Cytogenet. and Cell Genet.*, 1973, vol. 12, N 5, p. 315—326.
- Patton J. L., Sherwood S. W. Genome evolution in pocket gophers (genus *Thomomys*). I. Heterochromatin variation and speciation potential. — *Chromosoma*, 1982, vol. 85, p. 149—162.
- Pearson W. R., Davidson E. H., Britten R. J. A program for least square analysis of reassociation and hybridization data. — *Nucl. Acids Res.*, 1977, vol. 4, p. 1727—1737.
- Pearson W. R., Wu J.-R., Bonner J. Analysis of rat repetitive DNA sequences. — *Biochemistry*, 1978, vol. 17, p. 51—59.
- Pedersen R. A. DNA content, ribosomal gene multiplicity and cell sizes in fish. — *J. Exp. Zool.*, 1971, vol. 177, N 1, p. 65—78.
- Pellicciari C., Formenti D., Redi C. A., Manfredi-Romamimi M. G. DNA content in Primates. — *J. Hum. Evol.*, 1982, vol. 11, p. 131—141.
- Perlman S., Philipps C., Bishop J. O. A study of foldback DNA. — *Cell*, 1976, vol. 8, p. 33—42.
- Philippsen P., Streek R. E., Zachau H. G. Defined fragments of calf, human and rat DNA produced by restriction nucleases. — *Europ. J. Biochem.*, 1974, vol. 45, p. 479—488.
- Potter I. C., Robinson E. S. The chromosomes of the Cyclostomes. — In: *Cytotaxonomy and vertebrate evolution* / Ed. A. B. Chiarelli, E. Capanna. L.: N. Y.: Acad. press, 1973, p. 179—203.
- Potter I. C., Robinson E. S. New development in vertebrate cytotaxonomy. V. Cytotaxonomy of lampreys. — *Genetica*, 1981, vol. 56, N 2, p. 149—151.
- Price H. J. Evolution of DNA content in higher plants. — *Bot. Rev.*, 1976, vol. 42, N 1, p. 27—52.
- Rake A. V., Miksche J. P., Hall R. B., Hansen K. M. DNA reassociation kinetics of four conifers. — *Canad. J. Genet. and Cytol.*, 1980, vol. 22, p. 69—79.
- Ranjekar P. K., Lafontaine J. G., Pallotta D. Characterization of repetitive DNA in Rye (*Secale cereale*). — *Chromosoma*, 1974, vol. 48, p. 427—440.
- Ranjekar P. K., Pallotta D., Lafontaine J. G. Analysis of the genome of plants. II. Characterization of repetitive DNA in barley (*Hordeum vulgare*) and wheat (*Triticum aestivum*). — *Biochim. et biophys. acta*, 1976, vol. 425, N 1, p. 30—40.
- Rash E. M., Darnell R. M., Kallman K. D., Abramoff P. Cytophotometric evidence for triploidy in hybrids of the gynogenetic fish. — *J. Exp. Zool.*, 1965, vol. 160, p. 155—169.
- Rash E. M., Prehn L. M., Rash R. W. Cytogenetic studies of *Poecilia* (Pisces). II. Triploidy and DNA levels in naturally occurring populations associated with the gynogenetic teleost *Poecilia formosa* (Girard). — *Chromosoma*, 1970, vol. 31, p. 18—40.

- Rawson J. R. Y., Eckenrode V. K., Boerma C. L., Curtis S. DNA sequence organization in the alga *Euglena gracilis*. — *Biochim. et biophys. acta*, 1979, vol. 563, p. 1—16.
- Razin S. V., Mantieva V. L., Georgiev G. P. DNA adjacent to attachment points of deoxyribonucleoprotein fibril to chromosomal axial structure is enriched in reiterated base sequences. — *Nucl. Acids Res.*, 1978, vol. 5, p. 4735—4751.
- Rees R. W., Fox D. P., Maher E. P. DNA content, reiteration and satellites in *Dermestes*. — In: *Curr. Chrom. Res.* / Ed. K. W. Jones, P. E. Brandham. Amsterdam: Elsevier, 1976, p. 33—41.
- Rees H., Jones R. N. The origin of the wide species variation in nuclear DNA content. — *Intern. Rev. Cytol.*, 1972, vol. 32, p. 53—92.
- Rendel J. M., Kellerman G. M. Deoxyribonucleic acid content of marsupial nuclei. — *Nature*, 1955, vol. 176, p. 829—830.
- Renkawitz R. Characterization of two moderately repetitive DNA components localized within the β -Heterochromatin of *Drosophila hydei*. — *Chromosoma*, 1978a, vol. 66, N 3, p. 225—236.
- Renkawitz R. Two highly repetitive DNA satellites of *Drosophila hydei* localized within the α -Heterochromatin of specific chromosomes. — *Chromosoma*, 1978b, vol. 66, N 3, p. 237—248.
- Robertson W. R. B. Chromosome studies. I. Taxonomic relationships shown in the chromosomes of Tettigidae and Acrididae. V-shaped chromosomes and their significance in Acrididae, Locustidae and Gryllidae: Chromosomes and variation. — *J. Morphol.*, 1916, vol. 27, p. 179—331.
- Robinson E. S., Potter L. C., Atkin N. B. The nuclear DNA content of Lampreys. — *Experientia*, 1975, vol. 31, N 8, p. 912—913.
- Rosen J. M., Liaracos C. D., O'Malley B. W. Effect of estrogen on gene expression in the chick oviduct. I. Deoxyribonucleic acid renaturation studies. — *Biochemistry*, 1973, vol. 12, p. 2803—2816.
- Roth G. E. Satellite DNA properties of the germ line limited DNA the organization of the somatic genomes in the nematodes *Ascaris suum* and *Parascaris equorum*. — *Chromosoma*, 1979, vol. 74, p. 355—371.
- Samols D., Swift H. Genomic organization in the flesh fly *Sarcophaga bullata*. — *Chromosoma*, 1979, vol. 75, p. 129—143.
- Sanches O., Yunis J. J. The relationship between repetitive DNA and chromosomal bands in man. — *Chromosoma*, 1974, vol. 48, p. 191—202.
- Santiago L., Rake A. V. Rodent DNA reassociation kinetics. — *Biochem. Genet.*, 1973, vol. 9, p. 275—282.
- Saunders G. F., Shirakawa S., Saunders P. P. et al. Population of repeated DNA sequences in the human genome. — *J. Mol. Biol.*, 1972, vol. 63, p. 323—334.
- Schachat F., O'Connor D. J., Epstein H. F. The moderately repetitive DNA sequences of *Caenorhabditis elegans* do not show short-period interspersion. — *Biochim. et biophys. acta*, 1978, vol. 520, p. 688—692.
- Scheller K., Mascheck P. The genome of *Calliphora*. Analysis by DNA reassociation kinetics. — *Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem.*, 1978, Bd. 359, S. 1413—1417.
- Scheller R. A., Costantini F. D., Kozlowski M. R. et al. Specific representation of cloned repetitive DNA sequences in sea urchin RNAs. — *Cell*, 1978, vol. 15, p. 189—203.
- Scherwood S. W., Patton J. L. Genome evolution pocket gophers (genus *Thomomys*). II. Variation in cellular DNA content. — *Chromosoma*, 1982, vol. 85, p. 163—179.
- Schmid S. W., Deininger P. L. Sequence organization of the human genome. — *Cell*, 1975, vol. 6, p. 345—358.

- Schmid C. W., Manning J. E., Davidson N.* Inverted repeat sequences in the *Drosophila* genome. — *Cell*, 1975, vol. 5, p. 159—172.
- Schmid M.* Chromosome banding in Amphibia. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*. — *Chromosoma*, 1978a, vol. 66, p. 361—388.
- Schmid M.* Chromosome banding in Amphibia. II. Constitutive heterochromatin and nuclear organizer regions in *Ranidae*, *Microhylidae* and *Rhacophoridae*. — *Chromosoma*, 1978b, vol. 68, p. 131—148.
- Schmid M.* Chromosome banding in Amphibia. V. Highly differentiated ZW/ZZ sex chromosomes and exceptional genome size in *Pyxicephalus adspersus* (*Anura*, *Ranidae*). — *Chromosoma*, 1980, vol. 80, p. 69—96.
- Schmidtke J., Brennecke H., Schmid M. et al.* Evolution of Muntjac DNA. — *Chromosoma*, 1981, vol. 84, p. 187—193.
- Schmidtke J., Epplen J. T.* Sequence organization of animal nuclear DNA. — *Hum. Genet.*, 1980, vol. 55, p. 1—18.
- Schmidtke J., Epplen J. T., Engel W.* Genome analysis of *Amphioxus* and speculation as to the origin of contrasting vertebrate genome organization patterns. — *Comp. Biochem. and Physiol., B*, 1979a, vol. 63, p. 455—458.
- Schmidtke J., Kandt I.* Single-copy DNA relationship between diploid and tetraploid teleostean fish species. — *Chromosoma*, 1981, vol. 83, p. 191—197.
- Schmidtke J., Schmitt E., Leipoldt M., Engel W.* Amount of repeated and non-repeated DNA in the genomes of closely related fish species with varying genome sizes. — *Comp. Biochem. and Physiol. B*, 1979c, vol. 64, p. 117—120.
- Schmidtke J., Schmitt E., Matzke E., Engel W.* Non-repetitive DNA sequence divergence in phylogenetically diploid and tetraploid teleostean species of the family *Cyprinidae* and the order *Isospondili*. — *Chromosoma*, 1979b, vol. 75, p. 185—198.
- Schmidtke J., Schulte B., Kuhl P., Engel W.* Gene action in fish of tetraploid origin. V. Cellular RNA and protein content and enzyme activities in *Cyprinid* *Clupeoid* and *Salmonoid* species. — *Biochem. Genet.*, 1976a, vol. 14, N 11 / 12, p. 975—980.
- Schmidtke J., Zenzes M. T., Weiler C. et al.* Gene action in fish of tetraploid origin. IV. Ribosomal DNA amount in *clupeoid* and *salmonoid* fish. — *Biochem. Genet.*, 1976b, vol. 14, N 3/4, p. 293—297.
- Serra V., Mandarino R.* Short period interspersed pattern in the genome of a Teleostean fish. — *J. Exp. Zool.*, 1979, vol. 187, p. 515—520.
- Seshadri M., Ranjekar P. K.* — *Ind. J. Biochem. Biophys.*, 1979, vol. 16, p. 1—5.
- Seshadri M., Ranjekar P. K.* Denaturation and reassociation properties of the genome of *Phaseolus vulgaris*. — *Hoppe-Seyler's Ztschr. physiol. Chem.*, 1980, Bd. 361, S. 1041—1048.
- Shaan M. E., Nagl W.* Repetitive DNA in primitive angiosperms. — *Plant. Syst. and Evol.*, 1979, suppl. 2, p. 67—71.
- Shapiro H. S.* Deoxyribonucleic acid content per cell of various organisms. — In: *Handbook of biochemistry and molecular biology* / Ed. G. D. Fasman. Cleveland: CRC press, 1976, vol. 2, p. 284—310.
- Shields G. F., Straus N. A.* DNA—DNA hybridization studies of birds. — *Evolution*, 1975, vol. 29, N 2, p. 159—166.
- Simpson G. G.* The meaning of evolution. New Haven, Conn.: Yale Univ. press, 1949, 1st ed.; 1957, 2nd ed.
- Singer D. S.* Arrangement of a highly repeated DNA sequence in the genome and chromatin of the African green monkey. — *J. Biol. Chem.*, 1979, vol. 254, N 12, p. 5506—5514.
- Singer D., Donehower L.* Highly repeated DNA of the baboon: organization of

- sequences homologous to highly repeated DNA of the African green monkey. — *J. Mol. Biol.*, 1979, vol. 134, p. 835—842.
- Skinner D. M.* Satellite DNA. — *BioScience*, 1977, vol. 27, p. 790—796.
- Smith D. B., Flavell R. B.* Nucleotide sequence organization in the rye genome. — *Biochim. et biophys. acta*, 1977, vol. 474, p. 82—97.
- Smith G. P.* Evolution of repeated DNA sequences by unequal crossover. — *Science*, 1976, vol. 191, p. 528—535.
- Smith M. J., Boal R.* DNA sequence organization in the common Pacific starfish *Pisaster ochaceus*. — *Canad. J. Biochem.*, 1978, vol. 56, p. 1048—1054.
- Smith M. J., Lui A., Gibson K. K., Etzkorn J. K.* DNA sequence organization in the starfish *Dermasterias imbricata*. — *Canad. J. Biochem.*, 1980, vol. 58, p. 352—360.
- Sola L., Catandella S., Capanna E.* New developments in vertebrate cytotaxonomy. III. Karyology of bony fishes: a review. — *Genetica*, 1981, vol. 54, p. 285—328.
- Southern E. M.* Effect of sequence divergence on the reassociation properties of repetitive DNAs. — *Nature. New Biol.*, 1971, vol. 232, p. 32—34.
- Southern E. M.* Long periodicities in mouse satellite DNA. — *J. Mol. Biol.*, 1975, vol. 94, p. 51—69.
- Sparrow A. N., Price H. J., Underbrink A. G.* A survey of DNA content per cell and per chromosome of prokaryotic and eukaryotic organisms: some evolutionary considerations. — In: *Evolution of genetic systems* / Ed. H. H. Smith. N. Y.: Gordon and Breach, 1972, p. 451—493.
- Stack S. M., Comings D. E.* The chromosomes and DNA of *Allium cepa*. — *Chromosoma*, 1979, vol. 70, p. 161—181.
- Stefos K., Arrighi F. E.* Heterochromatic nature of W chromosome in birds. — *Exp. Cell Res.*, 1971, vol. 68, p. 228—231.
- Stefos K., Arrighi F. E.* Repetitive DNA of *Gallus domesticus* and its cytological locations. — *Exp. Cell Res.*, 1974, vol. 83, p. 9—14.
- Steinbrück G., Haas I., Hellmer K.-H., Ammermann D.* Characterization of macronuclear DNA in five species of Ciliates. — *Chromosoma*, 1981, vol. 83, p. 199—208.
- Stingo V.* Variologia di dur torpedini italiane. — *Boll. zool.*, 1976, vol. 43, N 4, p. 406—407.
- Stingo V.* Ulteriori dati cariologici sui selaci italiani. — *Boll. zool.*, 1977, vol. 45, N 2, p. 243.
- Stingo V.* The chromosomes of the cartilaginous fishes. — *Genetica*, 1979, vol. 50, N 3, p. 227—239.
- Straus N. A.* Comparative DNA renaturation kinetics in Amphibians. — *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 1971, vol. 68, p. 799—802.
- Straus N. A.* Repeated DNA in eukaryotes. — In: *Handbook of genetics* / Ed. R. King. N. Y.: L.: Plenum press, 1976, p. 3—29.
- Straus N. A., Birnboim H. C.* Polypyrimidine sequences found in eukaryotic DNA have been conserved during evolution. — *Biochim. et biophys. acta*, 1976, vol. 454, p. 419—428.
- Sumner A. T.* A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. — *Exp. Cell Res.*, 1972, vol. 75, N 1, p. 304—306.
- Sutton W. D.* A crude nuclease preparation suitable for use in DNA reassociation experiments. — *Biochim. et biophys. acta*, 1971, vol. 240, p. 522—531.
- Sutton W. D., MacCallum M.* Mismatching and the reassociation rate of mouse satellite DNA. — *Nature. New Biol.*, 1971, vol. 232, p. 82—85.
- Szarski H.* Cell size and nuclear DNA content in vertebrates. — *Intern. Rev. Cytol.*, 1976, vol. 44, p. 93—111.
- Taylor K. M.* The chromosomes of some lower chordates. — *Chromosoma*, 1977, vol. 21, p. 181—188.

- Thiebaud C. H., Fishberg M.* DNA content in the genus *Xenopus*. — *Chromosoma*, 1977, vol. 59, N 3, p. 253—257.
- Thompson K. S., Gall J. G., Coggin L. W.* Nuclear DNA content of Coelacanth erythrocytes. — *Nature*, 1973, vol. 241, N 5385, p. 126.
- Thorgaard G. H.* Robertsonian polymorphism and constitutive heterochromatin distribution in chromosomes of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). — *Cytogenet. and Cell Genet.*, 1976, vol. 17, p. 174—184.
- Timberlake W. E.* Low repetitive DNA content in *Aspergillus nidulans*. — *Science*, 1978, vol. 202, p. 973—975.
- Torelli G., Cadossi R., Ferrari S. et al.* Reassociation kinetics of the DNA of human acute leukemia cells. — *Biochim. et biophys. acta*, 1979, vol. 561, p. 301—311.
- Ullerich F. H.* Weitere Untersuchungen über chromosomenverhältnisse und DNS-Gehalt bei Anuren (Amphibia). — *Chromosoma*, 1967, vol. 21, p. 345—368.
- Ullerich F. H.* DNS-Gehalt und Chromosomenstruktur bei amphibia. — *Chromosoma*, 1970, vol. 30, N 1, p. 1—37 (цит. по Olmo, 1973).
- Vaughn J. C.* DNA reassociation kinetics and chromosome structure in the crabs *Cancer borealis* and *Libinia emarginata*. — *Chromosoma*, 1975, vol. 50, p. 243—257.
- Vaughn J. C.* DNA reassociation kinetics analysis of the brine shrimp, *Artemia salina*. — *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 1977, vol. 79, N 2, p. 525.
- Vendrely R.* The deoxyribonucleic acid content of the nucleus. — In: *The nucleic acids* / Eds. E. Chargaff, J. N. Davidson. N. Y.: Acad. press, 1955, vol. 2, p. 155—180.
- Vendrely R., Vendrely C.* La teneur du noyau cellulaire en acide désoxyribonuclease à travers les organes, les individus et les espèces animales. — *Experientia*, 1949, vol. 5, p. 327—329.
- Vendrely R., Vendrely C.* L'acide désoxyribonuclease (ADN) substance fondamentale de la cellule vivante. P.: Legrand, 1957.
- Vialli N.* Volume et contenu en ADN par noyau. — In: *Cytochemical methods with quantitative aims*. N. Y.: Acad. press, 1957, suppl. 4, p. 284—293.
- Vistorin G., Gamperl R., Rozenkranz W.* Analysis of mitotic and meiotic chromosomes of the European hamster, *Cricetus cricetus* (L.). — *Ztschr. Säugetierk.*, 1976, Bd. 41, N 6, S. 342—348.
- Vogt V. M.* Purification and further properties of single-strand-specific nuclease from *Aspergillus oryzae*. — *Europ. J. Biochem.*, 1973, vol. 33, p. 192—200.
- Vorob'ev V. I., Kosjuk G. N.* Distribution of repetitive and non-repetitive nucleotide sequences in the DNA of sea urchin. — *FEBS Lett.*, 1974, vol. 47, N 1, p. 43—46.
- Vosa C. G.* Heterochromatin recognition with fluorochromes. — *Chromosoma*, 1970, vol. 30, p. 366—372.
- Vosa C. G., Marchi P.* Quinacrine fluorescence and Giemsa staining in plants. — *Nature. New Biol.*, 1972, vol. 237, p. 191—192.
- Wagenmann M., Epplen J. T., Bachmann K. et al.* DNA sequence organization in relation to genome size in birds. — *Experientia*, 1981, vol. 37, N 12, p. 1274—1276.
- Walbot V., Dure L. S.* Developmental biochemistry of cotton seed embryogenesis and germination. VII. Characterization of the cotton genome. — *J. Mol. Biol.*, 1976, vol. 101, p. 503—536.
- Walbot V., Goldberg R. B.* Plant genome organization and its relationship to classical plant genetics. — In: *Nucleic acids in plant* / Eds. T. C. Hall, J. W. Davies. Fl.: CRC press, 1979, vol. 1, p. 3—40.
- Wallase W., Kass T. L.* On inverted repeat sequences in chromosomal DNA. — *Genetics*, 1976, vol. 82, p. 139—140.

- Walker P. M. B. Repetitive DNA in higher organisms. — *Progr. Biophys. and Mol. Biol.*, 1971a, vol. 23, p. 145—191.
- Walker P. M. B. Origin of satellite DNA. — *Hature*, 1971b, vol. 229, N 5283, p. 306—308.
- Waring M., Britten R. J. Nucleotide sequence repetition a rapidly reassociating fraction of mouse DNA. — *Science*, 1966, N 3750, p. 791—794.
- Weinblum D., Güngerich U., Geisert M., Zahn R. K. Occurrence of repetitive sequences in the DNA of some marine invertebrates. — *Biochim. et biophys. acta*, 1973, p. 231—240.
- Wells R., Royer H. D., Hollenberg C. P. Non-Xenopus-like sequence organization in the Chironomus tentants genome. — *Mol. and Gen. Genet.*, 1976, vol. 147, p. 45—51.
- Wenzel W., Hemleben V. DNA reassociation studies and considerations on the genome organization and evolution of higher plants. — *Plant and Syst. Evol.*, 1979, suppl. 2, p. 29—40.
- Wetmur J. G., Davidson N. Kinetics of renaturation of DNA. — *J. Mol. Biol.*, 1968, vol. 31, p. 349—370.
- Wilkes M. M., Pearson W. R., Wu J.-R., Bonner J. Sequence organization of the rat genome by electron microscopy. — *Biochemistry*, 1978, vol. 17, p. 60—69.
- Willey A. N., Yunis J. J. Localization and characterization of the repetitive DNA of the algerian hedgehog, Erinaceus (Aethecinus) algirus. — *Exp. Cell Res.*, 1975, vol. 91, p. 223—232.
- Wilmore P. J., Brown A. K. Molecular properties of orthopteran DNA. — *Chromosoma*, 1975, vol. 51, p. 337—345.
- Wilson A. C., Bush G. L., Case S. M., King M. C. Social structuring of mammalian populations and rate of chromosomal evolution. — *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 1975, vol. 72, p. 5061—5065.
- Wilson D. A., Thomas C. A. Hydroxyapatite chromatography of short double-helical DNA. — *Biochim. et biophys. acta*, 1973, vol. 331, p. 333—340.
- Wilson D. A., Thomas C. A. Palindromes in chromosomes. — *J. Mol. Biol.*, 1974, vol. 84, p. 115—138.
- Wimpee C. F., Rawson J. R. J. Characterization of the nuclear genome of pearl millet. — *Biochim. et biophys. acta*, 1979, vol. 562, p. 192—206.
- Wolf U., Ritter H., Atkin N. B., Ohno S. Polyploidization in the fish family Cyprinidae, order Cypriniformes. — *Humangenetik*, 1969, vol. 7, p. 240—244.
- Wray W., Mace M., jun., Dascal Y., Stubblefield E. Metaphase chromosome architecture. — *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 1978, vol. 42, pt 1, p. 361—365.
- Wu J.-R., Pearson W. R., Posakony J. W., Bonner J. Sequence relationship between long and short repetitive DNA of the rat: a preliminary report. — *Proc. Nat. Acad. Sci. US*, 1977, vol. 74, p. 4382—4386.
- Wurster D. H., Atkin N. B. Muntjac chromosomes: a new karyotype for Muntiacus muntjak. — *Experientia*, 1972, vol. 28, p. 972.
- Wurster D. H., Benirschke K. Indian muntjac, Muntiacus muntjak, a deer with a low diploid chromosome number. — *Science*, 1970, vol. 168, N 3937, p. 1364—1366.
- Yamamoto M. Cytological studies of heterochromatin function in the Drosophila melanogaster male: autosomal meiotic pairing. — *Chromosoma*, 1979, vol. 72, p. 293—328.
- Yamamoto M., Miklos G. L. G. Genetic dissection of heterochromatin in Drosophila: the role of basal X heterochromatin in meiotic sex behaviour. — *Chromosoma*, 1977, vol. 60, p. 283—296.

- Zenzes M. T., Voiculescu I. C-banding patterns in *Salmo trutta*, a species of tetraploid origin. — *Genetics*, 1975, vol. 45, p. 531—536.
- Zimmerman J. L., Goldberg R. B. DNA sequence organization in the genome of *Nicotiana tabacum*. — *Chromosoma*, 1977, vol. 59, p. 227—252.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Антонов А. С. Генетические основы эволюционного процесса. М.: Знание, 1983. 64 с.
- Беридзе Т. Г. Сателлитные ДНК. М.: Наука, 1982. 120 с.
- Захаров А. Ф., Бенюш В. А., Кулешов Н. П., Барановская Л. И. Хромосомы человека (Атлас). М.: Медицина, 1982. 264 с.
- Корочкин Л. И. Регуляция действия генов в развитии. — *Молекуляр. биология*, 1981, т. 15, вып. 5, с. 965—988.
- Разин С. В., Мантьева В. Л., Георгиев Г. П. Выделение и сравнительная характеристика участков ДНК, прилегающих к структурам остова интерфазного ядра и метафазной хромосомы. — *Молекуляр. биология*, 1980, т. 14, вып. 1, с. 223—233.
- Birstein V. J. Structural characteristics of genome organization in amphibians: differential staining of chromosomes and DNA structure. — *J. Mol. Evol.*, 1982, vol. 18, p. 73—91.
- Burkholder G. D., Ducek L. L. The effect of chromosome banding techniques on the proteins of isolated chromosomes. — *Chromosoma*, 1982b, vol. 87, N 4, p. 425—435.
- Castro C., Craig S. P., Castañeda M. Genome organization and ploidy number in *Trypanosoma cruzi*. — *Mol. Biochem. Parasitol.*, 1981, vol. 4, p. 273—282.
- Lyapunova E. A., Vorontsov N. N., Korobitsyna K. V. et al. A robertsonian fan in *Ellobius talpinus*. — *Genetica*, 1980a, vol. 52/53, p. 239—247.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие редактора. Сравнительные подходы в «классической» и «современной» биологии (Н. Н. Воронцов)	3
Предисловие автора	6
ВВЕДЕНИЕ	11
Основные понятия	11
Методы исследования	17
Изученность генома позвоночных	28
Глава первая	
НИЗШИЕ ХОРДОВЫЕ И КРУГЛОРОТЫЕ	31
§ 1. Структура генома	31
§ 2. Организация генома	33
§ 3. Размер генома	34
Глава вторая	
РЫБЫ PISCES	38
§ 1. Структура генома	38
1. Хрящевые рыбы Chondrichthyes	38
2. Костные рыбы Osteichthyes	43
Ганоидные Ganoidomorpha	43
Лососевые Salmoniformes	43
Карпообразные Cypriniformes	48
§ 2. Организация генома	50
§ 3. Размер генома	57
1. Хрящевые рыбы Chondrichthyes	57
2. Костные рыбы Osteichthyes	72
Подкласс лопастеперые Sarcopterigii	72
Подкласс лучеперые Actinopterygii	72
Глава третья	
ЗЕМНОВОДНЫЕ AMPHIBIA	76
§ 1. Структура генома	76
§ 2. Организация генома	83
§ 3. Размер генома	86
1. Безногие Apoda	86
2. Хвостатые Urodela	86
3. Бесхвостые Anura	98

Глава четвертая

ПРЕСМЫКАЮЩИЕСЯ REPTILIA 99

§ 1. Структура генома 99

§ 2. Организация генома 103

§ 3. Размер генома 108

Глава пятая

ПТИЦЫ AVES 113

§ 1. Структура генома 113

§ 2. Организация генома 117

§ 3. Размер генома 123

Глава шестая

МЛЕКОПИТАЮЩИЕ MAMMALIA 126

§ 1. Структура генома 128

1. Приматы 128

2. Грызуны: робертсоновский веер разнохромосомных форм слепушонок, род *Ellobius* (Cricetidae) 136

3. Грызуны: суслики рода *Citellus* (Sciuridae) как виды, характеризующиеся различиями в тонкой структуре хромосом 140

4. Грызуны: хомяки Палеарктики как группа видов с резкими различиями и в количестве хромосом, и в количестве С-гетерохроматина (подсемейство Cricetinae) 146

5. Морские млекопитающие (китообразные и ластоногие) как группы с низкой скоростью кариотипической эволюции 151

6. Общий обзор по структуре генома млекопитающих 156

Частота повторяемости 157

Относительное содержание фракций в геноме 158

§ 2. Организация генома 160

1. Человек 160

2. Хомяки 161

3. Суслики 166

4. Разнообразие способов организации генома млекопитающих 172

§ 3. Размер генома 173

Глава седьмая

ГЕНОМ ПОЗВОНОЧНЫХ: ЭВОЛЮЦИОННЫЙ АСПЕКТ

§ 1. Структура генома позвоночных	186
§ 2. Отсутствие единого типа организации генома позвоночных	187
§ 3. Сравнительный анализ структуры и организации геномов эукариот	189
1. Структура геномов грибов, растений и беспозвоночных животных	189
2. Организация геномов грибов, растений и беспозвоночных животных	207
Грибы и растения	207
Беспозвоночные	211
3. Многообразие вариантов молекулярной организации геномов эукариот	212
§ 4. Эволюция размеров генома	215

Глава восьмая

ГЕНОМ ПОЗВОНОЧНЫХ: СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ АСПЕКТ

219

§ 1. Организация последовательностей в отдельных фракциях ДНК	219
1. Очень быстро реассоциирующая фракция	220
Обращенные повторы	220
Высокоповторяющиеся последовательности, или сателлитоподобная ДНК	222
Функция последовательностей очень быстрой фракции	224
2. Быстро реассоциирующая фракция	227
3. Промежуточные повторы	230
4. Медленно реассоциирующая фракция	231
§ 2. Происхождение и функции избыточной ДНК	233
1. Происхождение повторов	233
2. Гипотезы о регуляторной роли повторов	234
Гипотеза Г. П. Георгиева	235
Гипотезы Бриттена—Дэвидсона	235
Проблема значимости повторов в регуляции активности генов	237
3. Динамичность генома, направленная эволюция последовательностей и «эгоистичная ДНК»	240
§ 3. Взаимоотношение между молекулярной и надмолекулярной организацией генома	242
1. Число хромосом	242
2. Гетерохроматин	245
Структура генома и гетерохроматин	245
Организация генома и гетерохроматин	247

3. Проблема функциональной значимости гетерохроматина	249
Структурная роль гетерохроматина	250
Защитная роль гетерохроматина	251
Роль гетерохроматина в клеточном метаболизме	251
Роль в транскрипции	252
Роль в эволюции кариотипа	252
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	255
Гипотеза о механизмах дифференциального окраши- вания хромосом	256
Гипотеза о возникновении и функциях избыточной ДНК	261
ЛИТЕРАТУРА	265



АНВАР АБДУРАХМАНОВИЧ ГИНАТУЛИН

**СТРУКТУРА, ОРГАНИЗАЦИЯ
И ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМА ПОЗВОНОЧНЫХ**

Утверждено к печати
Биолого-почвенным институтом
Дальневосточного научного центра
Академии наук СССР

Редактор издательства Э. А. Вишнякова

Художник Н. Н. Якубовская
Художественный редактор Н. Н. Власик
Технический редактор А. М. Сатарова
Корректоры Н. М. Вселюбская, В. А. Шварцер

ИБ № 27309

Сдано в набор 04.10.83
Подписано к печати 10.04.84
Т-05643. Формат 84×108¹/₃₂
Бумага типографская № 2
Гарнитура литературная
Печать высокая
Усл. печ. л. 15,54. Уч.-изд. л. 18,6. Усл. кр.-отт. 15,54
Тираж 1000 экз. Тип. зак. 842
Цена 3 р. 10 к.

Издательство «Наука»
117864 ГСП-7, Москва В-485
Профсоюзная ул., 90

Ордена Трудового Красного Знамени
Первая типография издательства «Наука»
199034, Ленинград, В-34, 9 линия, д. 12



В ИЗДАТЕЛЬСТВЕ «НАУКА»

ГОТОВИТСЯ К ПЕЧАТИ:

Наследственность человека и окружающая среда — 20 л.

Сборник работ, выполненных в рамках Международной программы «Человек и биосфера», включает статьи советских и зарубежных авторов, посвященные вопросам генетического мониторинга популяций, разработки высокочувствительных тест-систем для обнаружения мутагенов в окружающей среде и вопросам антимутагенеза.

Для генетиков, экологов, медицинских работников.

Поведение насекомых — 11 л.

В сборнике рассматриваются поведенческие аспекты биологии общественных и одиночных насекомых. Анализируется роль химических сигналов и поведенческих механизмов в отношениях хозяин—паразит, обсуждается значимость поведенческих механизмов для регуляции численности вредных насекомых. Дается анализ современного состояния вопросов и приводятся результаты новых исследований, выполненных в последние годы.

Для энтомологов, зоопсихологов, экологов, специалистов по защите леса.

Животный мир южной тайги. Проблемы и методы исследований — 20 л

Сборник содержит проблемные статьи с обзором новых методов изучения лесных экосистем и их сукцессии и конкретные работы по экологии и поведению животных. Широко освещены комплексы насекомых, связанных с разрушающейся древесиной и древесными грибами. Зоологические проблемы рассматриваются в связи с близкими и отдаленными перспективами развития промыслового и лесного хозяйства.

Для зоологов, энтомологов, экологов, специалистов в области лесного хозяйства.

Лебедева К. В., Миняйло В. А., Пятнова Ю. Б. Феромоны насекомых — 20 л.

В книге обобщены данные многочисленных публикаций по феромонам насекомых, представляющим собой сложные органические соединения, вырабатываемые экзокринными железами животных и влияющие на поведение, рост и развитие особей того же вида. Отражено современное состояние работ по выделению и идентификации феромонов, методам их синтеза и способам тестирования.

Для биохимиков, энтомологов, специалистов, работающих в области химических средств защиты растений.

Для получения книг почтой заказы просим направлять по адресу: 117192, Москва, Мичуринский проспект, 12, магазин «Книга — почтой» Центральной конторы «Академкнига»; 197345 Ленинград, Петрозаводская ул., 7, магазин «Книга — почтой» Северо-Западной конторы «Академкнига» или в ближайший магазин «Академкнига», имеющий отдел «Книга — почтой».

- | | | | |
|--------|--|--------|--|
| 480091 | Алма-Ата, ул. Фурманова, 91/97
(«Книга — почтой»); | 199164 | Ленинград, Таможенный пер., 2; |
| 370005 | Баку, ул. Джапаридзе, 13 («Книга —
почтой»); | 196034 | Ленинград, В/О, 9 линия, 16; |
| 320093 | Днепропетровск, проспект Гагарина,
24 («Книга — почтой»); | 220012 | Минск, Ленинский проспект, 72 («Кни-
га — почтой»); |
| 734001 | Душанбе, проспект Ленина, 95 («Кни-
га — почтой»); | 103009 | Москва, ул. Горького, 19а; |
| 375002 | Ереван, ул. Туманяна, 31; | 117312 | Москва, ул. Вавилова, 55/7; |
| 664033 | Иркутск, ул. Лермонтова, 289; | 630076 | Новосибирск, Красный проспект, 51; |
| 420043 | Казань, ул. Достоевского, 53; | 630090 | Новосибирск, Академгородок, Мор-
ской проспект, 22 («Книга — почтой») |
| 252030 | Киев, ул. Ленина, 42; | 142292 | Пушино, Московская обл., МР, «В», 1; |
| 252030 | Киев, ул. Пирогова, 2; | 620151 | Свердловск, ул. Мамина-Сибиряка,
137 («Книга — почтой»); |
| 252142 | Киев, проспект Вернадского, 79; | 700029 | Ташкент, ул. Ленина, 73; |
| 252030 | Киев, ул. Пирогова, 4 («Книга —
почтой»); | 700100 | Ташкент, ул. Шота Руставели, 43; |
| 277012 | Кишинев, проспект Ленина, 148
(«Книга — почтой»); | 700187 | Ташкент, ул. Дружбы народов, 6
(«Книга — почтой»); |
| 343900 | Краматорск Донецкой обл., ул. Мара-
та, 1; | 634050 | Томск, наб. реки Ушайки, 18; |
| 660049 | Красноярск, проспект Мира, 84; | 450059 | Уфа, ул. Р. Зорге, 10 («Книга —
почтой»); |
| 443002 | Куйбышев, проспект Ленина, 2 («Кни-
га — почтой»); | 450025 | Уфа, ул. Коммунистическая, 49; |
| 191104 | Ленинград, Литейный проспект, 57; | 720001 | Фрунзе, бульвар Дзержинского, 42
(«Книга — почтой»); |
| | | 310078 | Харьков, ул. Чернышевского, 87
(«Книга — почтой»). |

