

УДК 576.36:576.316.352:577.21

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ГУМОРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ЭНДОЦИКЛ

© 2011 г. Л. А. Шакина, В. Ю. Страшнюк

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков 61022

e-mail: strashnyuk@univer.kharkov.ua

Поступила в редакцию 15.04.2011 г.

В обзоре приведены данные о молекулярно-генетических механизмах, контролирующих эндоредупликацию. Рассмотрены вопросы, касающиеся активности основных регуляторов клеточного цикла: циклинов, циклин-зависимых киназ и их ингибиторов в условиях модифицированного клеточного цикла политенных клеток. Проанализированы особенности регуляции в точках начала репликации, а также роль гормонов и фитогормонов в онтогенетическом контроле эндоредупликации.

Политенные хромосомы являются структурной модификацией активно функционирующих интерфазных хромосом [1]. Впервые описанные Бальбиани в 1881 г. [2] они в настоящее время представляют собой один из наиболее удобных объектов визуального изучения генной активности, пространственной и структурной организации генома [3–8].

Политения широко распространена у животных и растений, встречаясь, как правило, в метаболически активных ядрах [5, 6, 9]. В основе этого явления лежит эндоредупликация – механизм, обеспечивающий возникновение в ядре множества унифицированных копий ДНК при отсутствии конденсации хроматина, сегрегации хромосом и цитокинеза. Благодаря этому экономятся время и ресурсы клетки, что обеспечивает более быстрый рост тканей и органов [6].

Метаболическая активность высокополиплоидной клетки может функционально соответствовать таковой у множества диплоидных клеток [5, 10]. Чаще всего эндоредупликация встречается в железистых, запасающих и питающих клетках, обеспечивая более высокий уровень экспрессии генов, когда этого требуют время и место. По мнению Нагля [11], эндоредупликация и сходные с ней явления, такие как клеточная полиплоидия и эндомитоз, являются стратегией эволюции.

Эндоредупликацию часто описывают как особый (novel) клеточный цикл, потому что хромосомы реплицируются, но клетки не делятся. Однако эндоредупликация является настолько обычной у растений и животных, что было бы более правильным описывать ее как “альтернативный” клеточный цикл, или как клеточный цикл окончательной дифференцировки [12].

До недавнего времени молекулярные механизмы укороченного клеточного цикла не были известны, и вероятными причинами возникновения политении считались мутации генов, контролирую-

щих некоторые аспекты клеточного цикла, дефекты веретена деления, либо неполная подготовка клеток к митозу из-за конкуренции процессов пролиферации и дифференцировки [5]. И только с середины 90-х годов минувшего века, после того как были достигнуты определенные успехи в изучении молекулярно-генетических аспектов регуляции клеточного цикла, началось систематическое исследование механизмов, лежащих в основе дифференцировки политенизирующихся клеток.

Цель работы – анализ данных, касающихся молекулярно-генетических механизмов, контролирующих переход от митотических делений к эндоредупликации и регулирующих ее в ходе клеточной дифференцировки, с описанием генов и их продуктов, вовлеченных в эти процессы.

### ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, КОНТРОЛИРУЮЩИЕ ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИЮ

В современных подходах важная роль в процессе перехода от митотического клеточного цикла к циклам эндоредупликации отводится изменению содержания и активности белков-регуляторов клеточного цикла – циклинов и циклин-зависимых киназ (CDKs), а также модуляторам их активности, подробное описание которых приведено в работе [13].

Обычно хромосомы реплицируются только один раз за клеточный цикл, и прохождение М-фазы требуется для “лицензирования” начала репликации для следующего раунда удвоения хромосом. Колебания уровня циклин-зависимых киназ позволяют умножить циклы лицензирования и репликации ДНК без вхождения в митоз [12].

Циклины и циклин-зависимые киназы являются нестабильными белками, от скоординированной работы которых зависит последовательность собы-

тий нормального клеточного цикла [14]. Циклины по структуре и фазам действия условно могут быть разделены на два подсемейства: циклины G<sub>1</sub>, достигающие максимальной активности в G<sub>1</sub>/S-фазе (группы C, D, E, J), и митотические циклины, содержание и активность которых достигает пика в период G<sub>2</sub>/M-перехода (группы A, B). Циклин-зависимые киназы состоят из серин/треониновой протеинкиназы и циклиновой регуляторной субъединицы. Временная активность CDKs контролируется в основном изменениями в относительном содержании циклиновых компонент, а также множественными реакциями фосфорилирования/дефосфорилирования протеинкиназного компонента и ассоциации CDKs с белками-ингибиторами/активаторами [15]. CDK1 (в другой номенклатуре CDC2, DmCDC2, p34<sup>cdc2</sup>, p34<sup>cdk1</sup>) животных и человека, идентифицированная как фактор созревания ооцитов — MPF (maturation promoting factor) [14], взаимодействует с митотическими циклинами A и B и стимулирует переход от G<sub>2</sub> к M-фазе, в то время как CDK4, 6 и CDK2 взаимодействуют с циклинами D, E и A и функционируют в G<sub>1</sub> и S-фазе [16]. Циклин A функционирует в комплексе с киназой CDK2 в G<sub>1</sub>-S-фазах клеточного цикла и с CDK1 — в G<sub>2</sub>-M-фазах [13].

У дрозофилы переключение от митотического цикла к циклам эндоредупликации связано с утратой митоз-активирующих циклинов A и B типа и последующей периодической экспрессией активирующего S-фазу циклина E [16–18]. Мутации в гене *fizzy* (*fz*) у *Drosophila*, блокирующие митотическую деградацию циклинов A и B, также приводят к выходу из митотического цикла [19]. Сходным образом делеция p56<sup>CDK13</sup> циклина B-типа у *Schizosaccharomyces pombe* приводит клетки к повторяющимся раундам S-фазы, минуя вступление в M-фазу [20]. С началом дифференцировки и эндоредупликации клеток хориокарциномы крысы Rcho-1 значительно изменяется экспрессия циклинов D-типа: подавляется экспрессия циклина D3, но стимулируется экспрессия циклина D1 [21]. Кроме того, показано снижение уровня экспрессии мРНК циклинов A и E, а также активности циклин A- и E-зависимых киназ по сравнению с пролиферирующими клетками. Циклин B1 находится в избытке только в течение первого цикла эндоредупликации, что объясняется невозможностью активировать его быструю деградацию (событие, обычно связанное с митозом) [22]. После первого эндоцикла циклин B не экспрессируется, предотвращая таким образом реинициацию митоза.

Переключение от митотического цикла к циклам эндоредупликации включает также регуляцию активности митотических и S-фазных циклин-зависимых киназ. Наиболее изучен переход от митоза к эндоциклу в фолликулярных клетках дрозофилы, который активируется сигнальной системой Notch. Совокупность регуляторных событий, запускаемых

сигнальной системой Notch, приводит к ингибированию активности M-фазной CDK и активации S-фазной CDK [23, 24]. Геном дрозофилы содержит ген *escargot* (*esg*), контролирующей уровень киназы DmCDC2, поддерживающей диплоидию [25]. Этот ген не функционирует в личиночных тканях с политенными хромосомами, а его сверхэкспрессия ингибирует нормальную эндоредупликацию в клетках слюнных желез [26]. Аналогичное ингибирование M-фазной CDK (MPF), а также активация S-фазных CDKs обнаружены во всех детально проанализированных эндоредуплицирующихся и полиплоидизирующихся системах: плацентарных трофобластах крыс [21], эндосперме кукурузы [27], плодах томата [28], мегакариоцитах мышей [29].

В работе [21] детально проанализированы события первого и последующих циклов эндоредупликации в Rcho-1 клетках хориокарциномы крысы. Показано, что одним из первых событий в процессе перехода от митотических циклов к циклам эндоредупликации является подавление регуляторной активности, ассоциированной с митозом, сначала прямым ингибированием p34<sup>cdk1</sup> киназной активности, что предотвращает инициацию митоза и приводит к остановке клетки в фазе G<sub>2</sub>, а затем ингибированием экспрессии митотических циклинов. Впоследствии восстанавливается активность циклин E- и A/p33<sup>cdk2</sup>-зависимых киназ и иницируется синтез ДНК. В конце первой S-стадии эндоцикла деградируют циклины A, E и B. Инициация нового цикла эндоредупликации происходит во время G-фазы, в которой активность циклин A- и E-зависимой киназы отсутствует. По аналогии с митотическим циклом, деградация циклина, по-видимому, допускает реактивацию точек начала репликации [30]. Неспособность гигантских клеток трофобласта вступать в митоз, несмотря на присутствие белка циклина B в период первого эндоцикла, возможно, происходит в основном из-за неспособности формировать стабильный активный комплекс циклин B/p34<sup>cdk1</sup>, как следствие снижения ассоциации циклина B и p34<sup>cdk1</sup> и специфической активности формирующихся комплексов. Последний эффект может быть связан с фосфорилированием p34<sup>cdk1</sup> [31]. Количество p34<sup>cdk1</sup>, связанной с циклином A, было также снижено на ранних этапах дифференцировки. Это свидетельствует о том, что киназа p34<sup>cdk1</sup> является мишенью ингибирования.

Среди модуляторов активности циклин-зависимых киназ важное место занимают ингибиторы этих ферментов (CDI, синонимы: CKI, ICK), активирующие и ингибирующие фосфатазы. Ингибиторы циклиновых киназ — это небольшие белки (20–27 кДа), способные ингибировать активность Cdc/Cdk-комплексов и напрямую взаимодействовать с данными комплексами и/или отдельными компонентами [32]. В ряде работ показано, что CDI являются важными регуляторами цикла эндореду-

пликации. Эндосперм кукурузы накапливает ингибитор CDK M-фазы одновременно с началом эндоредупликации [27]. Аналогично, сверхэкспрессия Rum1, ингибитора CDK M-фазы, приводит к увеличению содержания ДНК и увеличению объема ядра [33]. Транскрипты ингибитора CDK —  $p57^{Kip2}$  не присутствуют в клетках трофобласта до начала эндоредупликации. Прямой связи  $p57^{Kip2}$  с G<sub>1</sub>/S-фазной CDK показано не было, однако эктопическая экспрессия  $p57^{Kip2}$  стимулировала дифференциацию клеток-предшественников в гигантские клетки трофобласта, а экспрессия мутантной формы  $p57^{Kip2}$  блокировала эндоредупликацию [34]. Причастность ингибитора CDK p21 к полиплоидизации была показана Ву и соавт. [35], которые наблюдали появление больших полиплоидных ядер в гепатоцитах трансгенной мыши, избыточно экспрессировавшей p21. Индукция p21 мРНК обнаруживалась вскоре после начала полиплоидизации мегакариоцитов человека. Белок p21 ингибировал активность CDK2, тем самым блокируя нормальный G<sub>2</sub>/M переход и позволяя клеткам пропускать M-фазу и становиться гиперплоидными [36]. Мутации генов ингибиторов CDK *p21* и *p57<sup>Kip</sup>* мыши в эмбриогенезе приводят к потере многими клетками способности дифференцироваться [37]. У дрозофилы известен ген *dacapo*, который кодирует ингибитор комплекса cyclin E/cdk2 — гомолог Cip/Kip ингибиторов циклин-зависимых киназ позвоночных. В циклах эндоредупликации дрозофилы активация S-фазной CDK осуществляется посредством транскрипционной репрессии ингибиторной киназы *Dacapo* [38, 39].

Новый класс специфических для растений ингибиторов CDKs, кодируемых генами *SIAMESE (SIM)*, обнаружен у *Arabidopsis thaliana* [40]. По мнению авторов, они выполняют ключевую функцию перехода от митозов к эндоредупликации при развитии эпидермальных волосков. Рецессивные мутации в гене *SIM* приводят к формированию многоклеточных волосков, содержащих ядра с низким уровнем плоидности. Такой фенотип отличается от дикого типа, у которого эпидермальные волоски образованы отдельными клетками с содержанием ДНК в ядрах на уровне 16–32°С. Продуктом активности *SIM* является локализующийся в ядре белок с молекулярной массой 14 кДа, который содержит циклин-связывающий мотив и мотив, заложенный в ICK/KRP (Interactors of Cdc2 kinase/Kip-related protein) белках-ингибиторах клеточного цикла. Соответственно, белки *SIM* связываются с циклинами D-типа и CDKA;1. Гомологи *SIM* выявлены у двудольных и однодольных растений, но не у млекопитающих и грибов. Белки *SIM* экспрессируются в апикальной меристеме, в примордиуме листьев, в зоне растяжения корней.

Митоз-индуцирующие фосфатазы — ключевые активаторы митоза эукариотических клеток. У дрозофилы известны два гомолога — *String*, *Twine*, у че-

ловека — три: *Cdc25A*, *Cdc25B* и *Cdc25C*. Функция *Cdc25* состоит в дефосфорилировании Y-сайта (Tyr15) митотической киназы Cdk1 (*Cdc2*), тем самым стимулируется переход MPF в активную форму [41]. Эндонуклеотиды не требуют продукта гена *cdc25<sup>String</sup>* [42]. Температурочувствительные аллели гена *cdc25* блокируют клетки в переходе G<sub>2</sub>/M, оставляя белок *Cdc2* фосфорилированным по Y-сайту и неактивным [43]. Согласно результатам работы [44], активность гена *string*, а следовательно и переход от митотического цикла к циклу эндоредупликации в фолликулярных клетках *Drosophila* регулируются сигнальной системой Notch. Утрата Notch-рецептора, регулируемого им транскрипционного фактора Su(H), или лиганда Delta, прерывает нормальный переход фолликулярных клеток от митотического к эндонуклеотиду, что приводит к сверхпролиферации клеток. Кроме того, конститутивно активная форма Notch-рецептора способна индуцировать экспрессию *CycD*, а сайт связывания Su(H) обнаружен в промоторе *CycD* [45].

Свойства Wee1-киназы противоположны свойствам *Cdc25*. Роль Wee1-киназы в ингибировании активности *Cdc2* и фосфорилировании ее Y-сайта была показана для гомологов Wee1 у высших эукариот [46]. Wee1 мРНК кукурузы (*ZmWee1*) накапливается в период эндоредупликации [47].

В настоящее время известен ряд структурно и функционально гомологичных белков-регуляторов клеточного цикла, содержащих WD-повторы (WD — дипептид из триптофана и аспартата на C-конце), которые контролируют разрушение специфических митотических циклинов и выход из митотического клеточного цикла: *CCS52* у *Medicago sativa* (люцерна) [48], *CCS52A1* у *Arabidopsis* [49, 50], а также у других видов растений, *FZR (fizzy-related)* у *Drosophila melanogaster* [51], *SRW1/STE9* у *Schizosaccharomyces pombe* (делящиеся дрожжи) [52], *HCT1/CDH1* у *Saccharomyces cerevisiae* (почкующиеся дрожжи) [48]. У дрозофилы ген *fzr* экспрессируется на стадиях эмбриогенеза, когда клетки завершают клеточную пролиферацию [51]. Экспрессия *ccs52* у *Medicago* включается, когда дифференцируется примордиум корневого клубенька, при этом формирование больших дифференцированных клеток с увеличенным уровнем плоидности сопровождается высоким уровнем экспрессии гена *ccs52* [48]. Мутации, ведущие к потере функции *ccs52A1*, значительно увеличивают многоклеточность эпидермальных волосков у *Arabidopsis*, тогда как сверхэкспрессия *CCS52A1* полностью подавляет мутантный фенотип [50]. Непосредственное связывание *CDH1/FZR*, *CDC20/FZY*, *HCT1/CDH1* или *CCS52* белков с комплексом активации анафазы (APC: anaphase promoting complex) приводит к активации APC и APC-зависимому протеолизу митотических циклинов [48, 53–57]. Убиквитин-зависимый протеолиз циклина В комплексом активации анафазы [58] является одним из механизмов, ингибирующих

митотическую киназную активность. APC узнает и связывается с консервативной последовательностью, называемой боксом деструкции циклинов (destruction box, D-box), расположенной в N-конце циклинов. Убиквитин-лигаза из комплекса APC пришивает молекулы убиквитина к молекулам вблизи D-бокса. Затем белки, содержащие полиубиквитиновые цепочки, распознаются протеасомой и подвергаются деградации [59]. Активность CCS52 может регулироваться посттранскрипционно путем деградации или фосфорилирования [48]. Существование нескольких предполагаемых сайтов фосфорилирования CDK обнаружено у дрожжевых и животных гомологов CCS52. У почкующихся дрожжей фосфорилирование HCT1/CDH1 посредством CDK ингибирует связывание HCT1/CDH1 с APC, приводя к ингибированию протеолитической активности [56].

*Drosophila melanogaster* обладает единственным геном *Dm myb*, тесно связанным с семейством *myb* генов позвоночных, которые кодируют факторы транскрипции, вовлеченные в регуляцию клеточной пролиферации, дифференцировки и апоптоза. Ген *Dm myb* экспрессируется во всех пролиферирующих тканях, но не обнаружен в эндоредуплицирующихся клетках, за редким исключением [60, 61]. В недавних публикациях показано, что DMyb индуцирует экспрессию гена *cyclin B* в глазном имажинальном диске, что свидетельствует о непосредственной роли *Dm myb* в регуляции G<sub>2</sub>/M-перехода [61, 62]. Мутантные по *myb* клетки крыла останавливаются в G<sub>2</sub>-периоде и далее подвергаются эндоредупликации [63]. Брюшные эпидермальные клетки, мутантные по гену *Dm myb*, делятся намного более медленно, чем клетки дикого типа и проявляют различные митотические дефекты, включая аномальное количество центромер, что приводит к анеуплоидии и полиплоидии [64]. Нуль-аллель гена *Dm myb* приводит к проявлению митотических дефектов в личиночных имажинальных дисках и клетках головного мозга, подобных дефектам в брюшных эпидермальных клетках [65]. В дополнение к митотическим дефектам показаны нарушения S-фазы у носителей нуль-аллелей *Dm myb* [65]. Согласно результатам работы [66], в зависимости от типа клеточного цикла эктопическая экспрессия *Dm myb* может обладать противоположными эффектами на S-стадию: обеспечивать репликацию ДНК и пролиферацию диплоидной клетки; подавлять эндоредупликацию в эндоредуплицирующихся клетках. С-конец *Dm myb* действует как негативный регуляторный домен, который может регулироваться тканеспецифически. Один или большее количество факторов, называемых DMyb AF (факторы, активирующие DMyb), могут взаимодействовать с DMyb и активировать его. Эти факторы, предположительно, присутствуют в пролиферирующих клетках, но отсутствуют в эндоредуплицирующихся клетках.

Высококонсервативными регуляторами фазы G<sub>1</sub> и G<sub>1</sub>/S-перехода являются тумор-супрессорный белок ретинобластомы (pRb) и гетеродимерный фактор транскрипции E2F-DP. В гипофосфорилированном состоянии pRb и ассоциированные с ним в комплексе белки p107 и p130 связывают гетеродимерный фактор транскрипции E2F-DP. Большинство E2F белков (кроме E2F6) содержат С-концевой домен активации, перекрывающийся с сайтом связывания Rb. Поскольку связывание Rb маскирует E2F домен активации, Rb-связанные E2F-DP-комплексы работают как транскрипционные ингибиторы. Активные комплексы — CysD/Cdk4 и CysE/Cdk2 фосфорилируют белки семейства Rb, включая p107 и p130, что обеспечивает освобождение и активацию факторов транскрипции, в том числе и E2Fs-DP, что приводит к транскрипции генов, вовлеченных в G<sub>1</sub>/S и S-фазные переходы: генов циклинов, ретинобластомы (Rb), *c-myc* (который обеспечивает образование активного бинарного комплекса циклин E—Cdk2 из неактивного комплекса циклин E—Cdk2-p27), а также генов, необходимых для репликации и репарации ДНК (ДНК полимераза, CDC6, ORC1) [66–69]. Фосфорилирование ZmRb1 возрастает во время эндоредупликации [70]. Rb-статус клетки является ключевым детерминатором в клеточном ответе на Cip/Kip ингибиторы. Если клетки сохраняют функциональный pRb-механизм, экспрессия p21<sup>Cip/Waf1</sup> ингибирует развитие клеточного цикла в G<sub>1</sub>. Однако инактивация или утрата активности pRb связана с G<sub>2</sub> остановкой и циклами эндоредупликации [71]. Мисшью p21-опосредованного ингибирования в Rb-отрицательных клетках, по мнению авторов, является циклин E- и/или A-Cdk2. Ингибирование циклин B1-зависимой киназы посредством p21 не вносит вклад в G<sub>2</sub>-остановку, так как не было показано связывания значительных количеств циклина B1 с p21 Cdk2. Неполное ингибирование активности циклин E- и A-зависимой киназы может быть достаточным для инициации репликации, но недостаточным для перехода к митозу.

Транскрипционный фактор E2F-DP требуется для эндоредупликации у *Drosophila melanogaster* [72]. E2F-DP индуцирует транскрипцию циклина E, что приводит к формированию S-стадиеспецифичного комплекса циклин E—CDK2 — центрального регулятора эндоредупликации [73]. У трансгенных растений *Arabidopsis thaliana* со сверхэкспрессией E2Fa—DPa наблюдаются ядра больших размеров с увеличением уровня плоидности и содержанием ДНК 64С, тогда как у контрольных растений того же возраста максимальное содержание ДНК — 16С. Экспрессия E2Fa и DPa обнаружена как в пролиферирующих, так и эндоредуплицирующихся клетках *Arabidopsis* [68]. По мнению авторов, деление или эндоредупликация клеток со сверхэкспрессией E2Fa—DP зависят от компетентности клеток к делению. Клетки с митоз-индуцирующим фактором

(MIF) в фазе  $G_2$  вступают в митоз, тогда как в клетках, не имеющих последнего, активность E2Fa–DPa приводит к повторному вступлению в S-период, в результате чего повышается уровень пloidности. Последние работы показывают, что в эндоредуплицирующихся клетках, в отличие от пролиферирующих клеток, наблюдается не постоянная, а периодическая транскрипция циклина E. Колебания уровня белков E2F и циклина E происходят посредством петли отрицательной обратной связи с участием Cul4 – зависимого убиквитинирования и деградации E2F [74].

### РЕГУЛЯЦИЯ В ТОЧКАХ НАЧАЛА РЕПЛИКАЦИИ

Репликация ДНК в эукариотических клетках обычно начинается в специфических точках (origins) и происходит двунаправленно. Для инициации репликации необходима сборка в точках начала репликации пререпликативного комплекса (pre-RC), состоящего из стабильного комплекса узнавания точек начала репликации (origin recognition complex: ORC), белка Cdc6p-типа (CDC6/CDC18, CDT1) и минихромосомного поддерживающего комплекса (MCM). Комплекс pre-RC белков собирается на ДНК в точках начала репликации в раннем  $G_1$ -периоде, а затем активируется при вхождении в S-фазу [75]. ORC состоит из шести субъединиц, которые остаются связанными с точками начала репликации на протяжении большей части клеточного цикла [76]. Белки, называемые CDC6/CDC18 и CDT1, присоединяются к ORCs во время фазы  $G_1$  [77, 78] и стимулируют связывание MCM белков [79]. Когда пререпликативный комплекс полностью собран, ДНК “адекватна” к репликации. Два киназных комплекса – DBF4/CDC7 и E/CDK2 необходимы для активации pre-RC и вступления в S период [80]. Активируя S-фазу, CDKs инициируют репликацию только от точек начала репликации с pre-RC и репликация начинается после отсоединения pre-RC. Как S-фазные, так и M-фазные CDKs фосфорилируют компонент комплекса MCM, таким образом ингибируя сборку pre-RCs *de novo* и предотвращая формирование новых pre-RCs между периодом  $G_1$  и анафазой [81]. Механизм, посредством которого циклин E-CDK2 тормозит образование pre-RC, включает в себя негативную регуляцию APC – Cdh1-опосредованного протеолиза и накопление белка Geminin, который отвечает за улавливание pre-RC компонента Cdt1 [82–84]. В конце митоза циклины и geminin деградируют, позволяя реассоциацию pre-RC для следующего S-периода [85]. В делящихся дрожжах сверхэкспрессия гена *Cdc18* (разрешающий фактор репликации), гомолога гена *Cdc16* у почкующихся дрожжей, приводит к множественным раундам репликации и формированию гигантских ядер [86].

Исследование личинок дрозофилы третьего возраста, несущих мутации гена *MCM6*, показало, что их размеры достигают 50% от размеров личинок дикого типа. Поскольку личиночный рост происходит преимущественно за счет увеличения размеров клеток путем эндоредупликации генома, данный факт свидетельствует о существенной роли MCM6 в процессе эндоредупликации [87]. Политенные хромосомы DmMCM2 мутантов более хрупкие по сравнению с диким типом [79], что может свидетельствовать о существовании недореплицировавшихся районов. В большей части политенных ядер слюнных желез личинок второго и третьего возрастов (более 80%) MCMs не связаны с хромосомами и находятся в “нуклеоплазменном” состоянии, тогда как в 10% ядер у личинок середины третьего возраста MCMs ассоциированы с хромосомами [88]. Согласно Су и О'Фаррелл [89], решающую роль в ингибировании реассоциации MCMs с хромосомами во время S-фазы эндоцикла играет циклин E, а именно колебание его содержания. Экспрессия циклина E влияет на связывание хромосом с MCMs, что сопровождается вступлением в S период. В процессе синтеза ДНК MCMs отсоединяются от хромосом, а реассоциация предотвращается присутствием циклина E. Распад циклина E приводит к “разрешающему” состоянию в отношении связывания MCM с хроматином, но фактическое связывание начинается только с появлением нового цикла экспрессии циклина E.

### КОНТРОЛЬ ЭНДОРЕДУПЛИКАЦИИ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Установлено, что эндоредупликация находится под онтогенетическим контролем. В связи с этим высказывается мнение о гормональной регуляции этого процесса [12, 90].

У насекомых онтогенез регулируется двумя основными гормонами – экдистероном и ювенильным гормоном (ЮГ). Поскольку гормоны определяют дифференциальную активность генов в онтогенезе, активируя одни локусы и репрессируя другие, можно предположить, что им принадлежит ключевая роль в детерминации процессов, которые ведут к нарушению нормального хода митоза и дифференцировке политенных клеток.

Первые пики ЮГ и экдистерона наблюдаются на эмбриональной стадии развития [91]. В это же время происходят первые циклы эндоредупликации [92]. Остановка процесса политенизации хромосом отмечена у дрозофилы в конце личиночной стадии, когда происходит снижение в гемолимфе уровня ЮГ и наблюдается наибольший для личиночной стадии пик экдизона [88]. Это дает возможность предположить участие этих гормонов в контроле эндоредупликации.

Данные о динамике политенизации в онтогенезе [90, 93] и опыты по экспериментальному влиянию гормонов на геном [94, 95] указывают на то, что ключевую роль в реализации генетической программы, отвечающей за умножение генома, играет ЮГ. В отношении роли экдистерона в этих процессах имеющиеся данные весьма противоречивы [7]. Многие авторы отмечают падение индекса мечения ядер <sup>3</sup>H-тимидином у разных видов двукрылых в периоды личиночных линек [93, 96]. Однако прямые эксперименты по инъекции гормона в гемолимфу личинок [97] и инкубации слюнных желез в присутствии экдистерона [98] не подтвердили роль этого гормона в контроле эндоредупликации, а в одной из работ [99] показано его стимулирующее действие.

По нашим данным, действие экдистерона на эндоредупликацию зависит от концентрации гормона, определенную роль при этом могут играть генотип и пол личинок. При малых концентрациях экдистерон может не оказывать влияния на эндоредупликацию или даже стимулировать ее, тогда как при больших концентрациях процесс угнетается [100]. В связи с этим экдистерон может иметь разное влияние на эндоредупликацию во время личиночных и личиночно-куколичной линек, поскольку его концентрация в гемолимфе в эти периоды существенно различается [101]. Кроме того, во время личиночных линек сохраняется высокий уровень ЮГ, который деградирует перед окукливанием.

У растений так же, как у млекопитающих и дрозофилы, эндоредупликация контролируется в ходе онтогенеза. Свидетельства этому обнаружены в большинстве тканей арабидопсиса, включая листья, стебель, но не в цветочных тканях. Политенные ядра обычно становятся превалирующими у зрелого растения, однако механизм, запускающий этот процесс, остается неизвестным [12].

Изучение вариабельности растительных клеток и тканей приводит к предположению, что эндоредупликация модулируется уровнем фитогормонов — ауксина, цитокинина, абсцизовой кислоты и гиббереллина [102, 103]. Существует множество доказательств того, что эти регуляторы роста растений непосредственно влияют на экспрессию ключевых генов-регуляторов клеточного цикла и циклин-зависимых киназ S-фазы [10, 104, 105]. Ауксин связан с регуляцией белкового обмена через убиквитин-протеосомный путь [106], который контролирует стабильность и количество регуляторов клеточного цикла [107]. В частности, ген *ccs52*, имеющий высокий уровень экспрессии во время дифференцировки корневых клубеньков люцерны, связан с белками, вовлеченными в деструкцию регуляторов клеточного цикла во время анафазы [48]. Ингибирование экспрессии *ccs52* у трансгенных растений *Medicago truncatula* снижает эндоредупли-

кацию в черешках листьев, гипокотиле и корнях, что означает, что эндоредупликация требует про-теолиза определенных регуляторов клеточного цикла.

Существует также возможность опосредованного влияния гормонов, контролирующих развитие, на эндоредупликацию, принимая во внимание множественный характер их действия на клетку. Непрямое влияние гормонов на функционирование генетического аппарата клеточного ядра обсуждается в литературе в связи с механизмами гормональной индукции пуфовой активности и белкового синтеза. Они касаются изменений ионного состава цитоплазмы и кариоплазмы и биоэлектрических характеристик клеточных и ядерных мембран [108–114].

Принимая во внимание такое разнообразие данных, можно сделать вывод о том, что на эндоредупликацию хромосом влияет комплекс факторов, при этом отдельные стадии онтогенеза сопровождаются определенными цитофизиологическими и генетическими изменениями, что создает соответствующие условия для политенизации.

#### ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Приведенный обзор данных литературы показывает, что в последнее время произошел существенный прогресс в понимании молекулярных и клеточных механизмов регуляции эндоредупликации.

Вместе с тем многие авторы указывают на практическое значение подобных исследований. Выявлена значительная вариабельность степени политении хромосом в клетках эндосперма семян в инбредных линиях кукурузы [12]. Показана связь степени умножения генома с размерами клеток и массой плодов некоторых видов сельскохозяйственных растений [115, 116]. В связи с этим разрабатываются виртуальные программы улучшения качества плодов культурных растений, предполагающие использование явления политении [117].

Существенная генетическая изменчивость уровня политении показана на модельном объекте — *Drosophila melanogaster* [100]. Установлена связь этого показателя с проявлениями эффекта гетерозиса, инбредной депрессии и отбором по адаптивно важным признакам [118–120]. Степень умножения генома тесно коррелирует с такими показателями приспособленности, как теплоустойчивость, масса тела имаго, жизнеспособность и др. [119, 120]. Эти данные позволяют в определенной мере оценить генетические эффекты политении и возможности практического использования этого явления.

Дальнейшие перспективы исследований некоторые авторы связывают с идентификацией генов, регулирующих клеточный цикл, с целью создания трансгенных растений с повышенной или пони-

женной экспрессией этих генов. Это позволит в скором времени изучить механизмы, контролирующие клеточный цикл, и их роль в индивидуальном развитии организмов [12]. Очевидно, что данное направление исследований может иметь практическое применение в селекции.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кикнадзе И.И. Политенные хромосомы как модель интерфазной хромосомы // Цитология. 1971. Т. 13. № 6. С. 716–732.
2. Balbiani E.G. Sur la structure du noyau des cellules salivaries chez les larves de Chironomus // Zool. Anz. 1881. V. 4. P. 637–641.
3. Painter T.S. A new method for the study of chromosome rearrangements and the plotting of chromosome maps // Science. 1933. V. 78. P. 585–586.
4. Кикнадзе И.И. Функциональная организация хромосом. Л.: Наука, 1972. 270 с.
5. Бродский В.Я., Урываева И.В. Клеточная полиплоидия: пролиферация и дифференцировка. М.: Наука, 1981. 259 с.
6. Жимулев И.Ф. Политенные хромосомы: морфология и структура. Новосибирск: Наука, 1992. 480 с.
7. Жимулев И.Ф. Хромомерная организация политенных хромосом. Новосибирск: ВО "Наука", Сиб. издат. фирма, 1994. 565 с.
8. Стегний В.Н. Архитектоника генома, системные мутации и эволюция. Новосибирск: Изд-во Новосибирского ун-та, 1993. 111 с.
9. Ильинская Н.Б. Политенные хромосомы у двукрылых и эволюционное значение политений // Двукрылые насекомые и их значение в сельском хозяйстве. Л.: ЗИН АН СССР, 1987. С. 123–125.
10. D'Amato F. Role of polyploidy in reproductive organs and tissues // Embryology of angiosperms / Ed. Johri V.M. N.Y.: Springer-Verlag, 1984. P. 523–566.
11. Nagl W. DNA endoreduplication and polyteny understood as evolutionary strategies // Nature. 1976. V. 261. P. 614–615.
12. Larkins B.A., Dilkes B.P., Dante R.A. et al. Investigating hows and why of DNA endoreduplication // J. Exp. Bot. 2001. V. 52. № 355. P. 183–194.
13. Омелянчук Л.В., Трунова С.А., Лебедева Л.И., Федорова С.А. Основные события клеточного цикла, их регуляция и организация // Генетика. 2004. Т. 40. № 3. С. 293–310.
14. Nasmyth K. Viewpoint: hutting the cell cycle in order // Science. 1996. V. 274. P. 1643–1645.
15. Mironov V., DeVeylder L., Van Montagu M., Inze D. Cyclin-dependent kinases and cell division in plants – the nexus // The Plant Cell. 1999. V. 11. P. 509–521.
16. Sauer K., Knoblich J.A., Richardson H., Lerner C.F. Distinct modes of cycling E/cdc2c kinase regulation and S-phase control in mitotic and endoreduplication cycles of *Drosophila embryogenesis* // Genet. Dev. 1995. V. 9. P. 1327–1339.
17. de Nooij J.C., Graber K.H., Hariharan I.K. Expression of cyclin-dependent kinase inhibitor Dacapo is regulated by cyclin E // Mechanisms of Development. 2001. V. 97. P. 73–83.
18. Lehner C.F., O'Farrell P.H. The role of *Drosophila* cyclin A and cyclin B in mitotic control // Cell. 1990. V. 61. P. 535.
19. Sigrist S., Jacobs H., Stratmann R., Lehner C.F. Exit from mitosis is regulated by *Drosophila* fizzy and the sequential destruction of Cyclins A, D and B3 // EMBO J. 1995. V. 14. P. 4827–4838.
20. Hayles J., Fisher D., Woollard A., Nurse P. Temporal order of S phase and mitosis in fission yeast is determined by the state of the p34<sup>cdc2</sup>-mitotic cyclin complex // Cell. V. 78. P. 813–822.
21. MacAuley A., Cross J.C., Werb Z. Reprogramming the cell cycle for endoreduplication in rodent trophoblast cells // Mol. Biology Cell. 1988. V. 9. Issue 4. P. 795–807.
22. King R.W., Jakson P.K., Kirschner M.W. Mitosis in transition // Cell. 1994. V. 79. P. 563–571.
23. Shcherbata H.R., Althausen C., Findley S.D., Ruohola-Baker H. The mitotic-to-endocycle switch in *Drosophila* follicle cells is executed by Notch-dependent regulation of G1/S, G2/M and M/G1 cell-cycle transitions // Development. 2004. V. 131. P. 3169–3181.
24. Artavanis-Tsakonas S., Rand M.D., Lake R.J. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development // Science. 1999. V. 284(5415). P. 770–776.
25. Hayashi S.A. Cdc2 dependent checkpoint maintains diploidy in *Drosophila* // Development. 1996. V. 122. P. 1051–1058.
26. Fuse N., Hirose S., Yayashi S. Diploidy of *Drosophila* imaginal cells is maintained by a transcriptional repressor encoded by *escargot* // Genes Dev. 1994. V. 8. P. 2270–2281.
27. Grafi G., Larkins B.A. Endoreduplication in maize endosperm: involvement of M phase-promoting factor inhibition and induction of S phase related kinases // Science. 1995. V. 269. P. 1262–1264.
28. Joubes J., Phan T-H., Just D. et al. Molecular and biochemical characterization of the involvement of cyclin-dependent kinase A during the early development of tomato fruit // Plant Physiology. 1999. V. 121. P. 857–869.
29. Zhang Y., Wag Z., Ravid K. The cell cycle in polyploid megakaryocytes is associated with reduced activity of cyclin B1-dependant cdc2 kinase // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 4266–4272.
30. Cocker J.H., Piatti S., Santocanale C. et al. An essential role for the Cdc6 protein in forming the pre-replicative complex of budding yeast // Nature. 1996. V. 379. P. 180–182.
31. Morgan D.O. Principles of CDK regulation // Nature. 1995. V. 374. P. 131–134.
32. Pines J., Hunter T. Cyclin-dependent kinases: an embarrassment of riches? // Cell Cycle Control / Eds Hutchison C., Glover D. N.Y.: Oxford Univ. Press, 1995. P. 144–176.
33. Correa-Bordes J., Nurse P. p25<sup>rum1</sup> orders S phase and mitosis by acting as an inhibitor of the p34<sup>cdc2</sup> mitotic kinase // Cell. 1995. V. 83. P. 1001–1009.

34. *Hattori N., Davies T.C., Anson-Cartwright L., Cross J.C.* Periodic expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p57<sup>Kip2</sup> in trophoblast giant cells defines a G2-like gap phase of the endocycle // *Mol. Biology Cell*. 2000. V. 11. P. 1037–1045.
35. *Wu H., Wade M., Krall L. et al.* Targeted *in vivo* expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p21 halts hepatocyte cell-cycle progression, postnatal liver development, and regeneration // *Genes Dev*. 1996. V. 10. P. 245–260.
36. *Kikuchi J., Furukawa Y., Iwase S. et al.* Polyploidization and functional maturation are two distinct processes during megakaryotic differentiation: Involvement of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 in polyploidization // *Blood*. 1997. V. 89. P. 3980–3990.
37. *Myster D.L., Duronio R.J.* To differentiate or not differentiate? // *Curr. Biol*. 2000. V. 10. № 8. P. R302–R304.
38. *Lane M.E., Sauer K., Wallace K. et al.* Dacapo, a cyclin-dependent kinase inhibitor, stops cell proliferation during *Drosophila* development // *Cell*. 1996. V. 87. P. 1225–1235.
39. *Ullah Z., Kohn M.J., Yagi R. et al.* Differentiation of trophoblast stem cells into giant cells is triggered by the p57/Kip2 inhibition of CDK1 activity // *Genes and Development*. 2008. V. 22. P. 3024–3036.
40. *Churchman M.L., Brown M.L., Kato N. et al.* SIAMESE, a plant-specific cell cycle regulator, controls endoreplication onset in *Arabidopsis thaliana* // *Plant Cell*. 2006. V. 18. P. 3145–3157.
41. *Millar J.B., McGowan C.H., Lenaers G. et al.* p80<sup>cdc25</sup> mitotic inducer is the tyrosine phosphatase that activates p34<sup>cdc2</sup> kinase in fission yeast // *EMBO J*. 1991. V. 10. P. 4301–4310.
42. *Smith A.V., Orr-Weaver T.L.* The regulation of the cell cycle during the *Drosophila* embryogenesis // *Development*. 1991. V. 112. P. 997–1008.
43. *Russel P., Nurse P.* cdc25<sup>+</sup> functions as an inducer in the mitotic control of fission yeast // *Cell*. 1986. V. 45. P. 145–150.
44. *Deng W., Althausen C., Ruohola-Baker H.* Notch-Delta signaling induces a transition from mitotic cell cycle to endocycle in *Drosophila* follicle cells // *Development*. 2001. V. 128. P. 4737–4746.
45. *Ronchini C., Capobianco A.J.* Induction of cyclin D1 transcription and CDK2 activity by Notch(ic): implication for cell cycle disruption in transformation by Notch(ic) // *Mol. Cell Biol*. 2001. V. 21. P. 5925–5934.
46. *Kugmagai F., Dunphy W.G.* Regulation of the cdc25 protein during the cell cycle in *Xenopus* extracts // *Cell*. 1992. V. 70. P. 139–146.
47. *Sun Y., Dilkes B.P., Zhang C. et al.* Characterization of maize (*Zea mays* L.) Weel and its activity in developing endosperm // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1999. V. 96. P. 4180–4185.
48. *Cebolla A., Vinardell J.M., Kiss E. et al.* The mitotic inhibitor ccs52 is required for endoreduplication and ploidy-dependent cell enlargement in plant // *EMBO J*. 1999. V. 18. P. 4476–4484.
49. *Larson-Rabin Z., Li Z., Masson P.H., Day C.D.* FZR/CCS52A1 expression is a determinant of endoreduplication and cell expansion in *Arabidopsis* // *Plant Physiology*. 2009. V. 149. P. 874–884.
50. *Kasili R., Walker J.D., Simmons L.A. et al.* SIAMESE cooperated with the CDH1-leke protein CCS52A1 to establish endoreplication in *Arabidopsis thaliana* trichomes // *Genetics*. 2010. V. 185. P. 257–268.
51. *Sigrist S.J., Lehner C.F.* *Drosophila* fizzy-related down-regulates mitotic cyclins and is required for cell proliferation arrest and entry into endocycles // *Cell*. 1997. V. 90. P. 671–681.
52. *Kitamura K., Maekawa H., Shimoda C.* Fission yeast Ste9, a homolog of Hct1/Cdh1 and fizzy-related, is novel negative regulator of cell cycle progression during G<sub>1</sub>-phase // *Mol. Biol. Cell*. 1998. V. 9. P. 1065–1080.
53. *Visintin R., Prinz S., Amon A.* CDC20 and CDH1: a family of substrate-specific activators of APC-dependent proteolysis // *Science*. 1997. V. 278. P. 460–463.
54. *Fang G., Hontago Y., Kirschner M.W.* Direct binding of CDC20 protein family members activates the anaphase-promoting complex in mitosis and G<sub>1</sub> // *Mol. Cell*. 1998. V. 2. P. 163–171.
55. *Lorca T., Castro A., Martinez A.-M. et al.* Fizzy is required for activation of the APC/cyclosome in *Xenopus* egg extracts // *EMBO J*. 1998. V. 17. P. 3565–3575.
56. *Zachariae W., Schwab M., Nasmyth K., Seufert W.* Control of cyclin ubiquitination by CDK-regulated binding of Hct1 to anaphase promoting complex // *Science*. 1998. V. 282. P. 1721–1724.
57. *Schaeffer V., Althausen C., Scherbaty H.R. et al.* Notch-dependent-expression of Fizzy-related/Hct1/Cdh1 expression is required for the mitotic-to-endocycle transition in *Drosophila* follicle cells // *Curr. Biol*. 2004. V. 14. P. 630–636.
58. *King R.W., Peters J.M., Tugendreich S. et al.* A 20S complex containing CDC 27 and CDC16 catalyzes the mitosis-specific conjugation of ubiquitin to cyclin B // *Cell*. 1995. V. 81. P. 279–288.
59. *Glötzler M., Murray A.W., Kirschner M.W.* Cyclin is degraded by the ubiquitin pathway // *Nature*. 1991. V. 349. P. 132–138.
60. *Katzen A.L., Bishop J.M.* Myb provides an essential function during *Drosophila* development // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996. V. 93. P. 13955–13960.
61. *Katzen A.L., Jackson J., Harmon B.P. et al.* *Drosophila myb* is required for the G<sub>2</sub>/M transition and maintenance of diploidy // *Genes Dev*. 1998. V. 12. P. 831–843.
62. *Okada M., Akimuru H., Hou D.X. et al.* Myb controls G(2)/M progression by inducing cyclin B expression in the *Drosophila* eye imaginal disc // *EMBO J*. 2002. V. 21. P. 675–684.
63. *Fung S.-M., Ramsay G., Katzen A.L.* Mutation of *Drosophila myb* lead to centrosome amplification and genomic instability // *Development*. 2002. V. 129. P. 347–359.
64. *Manak J.R., Mitiku N., Lipsick J.S.* Mutation of the *Drosophila* homologue of the Myb protooncogene causes genomic instability // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002. V. 99. P. 7438–7443.
65. *Fitzpatrick C. A., Sharkov N.V., Ramsay G., Katzen A.L.* *Drosophila myb* exerts opposing effects on S phase, promoting proliferation and suppressing endoreduplication // *Development*. 2002. V. 129. P. 4497–4507.
66. *Dyson N.* The regulation of E2F by pRb-family proteins // *Genes Dev*. 1998. V. 12. P. 2245–2262.



67. Duronio R.T., Bonnette P.C., O'Farrell P.H. Mutation of the *Drosophila* *dPD*, *dE2F*, and *cyclin E* genes reveal distinct role for the E2F-DP transcription factor and cyclin E during G<sub>1</sub>-S transition // *Mol. Cell Biol.* 1998. V. 18. P. 141–151.
68. De Vaydler L., Beeckman T., Beemster G.T.S. et al. Control of proliferation, endoreduplication, and differentiation by the *Arabidopsis* E2Fa-DPa transcription factor // *EMBO J.* 2002. V. 21. P. 1360–1368.
69. Roysman I., Austin R.J., Bosco G. et al. ORC localization in *Drosophila* follicle cells and the effects of mutations in *dE2F* and *dDP* // *Genes Dev.* 1999. V. 13. P. 827–840.
70. Graf G., Burnett R.J., Helentjaris T. et al. A *Vaize* cDNA encoding a member of the retinoblastoma protein family // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1996. V. 93. P. 8962–8967.
71. Niculescu A.B., Chen X., Smeets M. et al. Effects of p21<sup>Cip1/Waf1</sup> at both the G<sub>1</sub>/S and the G<sub>2</sub>/M cell cycle transitions: pRb is a critical determinant in blocking DNA replication and in preventing endoreduplication // *Mol. Cell Biol.* 1998. V. 18. P. 629–643.
72. Roysman I., Whittaker A.J., Orr-Weaver T.L. Mutations in *Drosophila* PD and E2F distinguish G<sub>1</sub>-S progression from an associated transcriptional program // *Genes Dev.* 1997. V. 11. P. 1999–2011.
73. Edgar B.A., Orr-Weaver T.L. Endoreduplication cell cycles: more for less // *Cell.* 2001. V. 105. P. 297–306.
74. Shibutani S.T., de la Cruz A.F., Tran V. et al. Intrinsic negative cell cycle regulation provided by PIP box- and Cul4Cdt2-mediated destruction of E2f1 during S phase // *Developmental Cell.* 2008. V. 15. P. 890–900.
75. Diffley J.F. DNA replication: building the perfect switch // *Curr. Biol.* 2001. V. 11. P. 367–370.
76. Rowles A., Chong J., Brown L. et al. Interaction between the origin recognition complex and the replication licensing system in *Xenopus* // *Cell.* 1996. V. 87. P. 287–296.
77. Malorano D., Moreau J., Mechali M. XCDT1 is required for the assembly of pre-replicative complexes in *Xenopus laevis* // *Nature.* 2000. V. 404. P. 622–625.
78. Nishitani H., Lygerou Z., Nishimoto T., Nurse P. The Ctd1 protein is required to license DNA for replication in fission yeast // *Nature.* 2000. V. 404. P. 625–628.
79. Tanaka T., Knapp D., Nasmyth K. Loading of an MCM protein into DNA replication origins is regulated by Cdc6p and CDKs // *Cell.* 1997. V. 90. P. 649–660.
80. Hengstschlager M., Braun K., Soucek T. et al. Cyclin-dependent kinases at the G<sub>1</sub>-S transition of the mammalian cell cycle // *Mutat. Res.* 1999. V. 436. P. 1–9.
81. Arias E.E., Walter J.C. Strength in numbers: Preventing rereplication via multiple mechanisms in eukaryotic cells // *Genes and Development.* 2007. V. 21. P. 497–518.
82. Tada S., Maiorano D., Mechali M., Blow J.J. Repression of origin assembly in metaphase depends on inhibition of RLF-B/Cdtq by geminin // *Nat. Cell Biol.* 2001. V. 3. P. 107–113.
83. Narbonne-Reveau K., Senger S., Pal M. et al. APC/CFzr/Cdh1 promotes cell cycle progression during the *Drosophila* endocycle // *Development.* 2008. V. 135. P. 1451–1461.
84. Zielke N., Querings S., Rottig C. et al. The anaphase-promoting complex/cyclosome (APC/C) is required for rereplication control in endoreplication cycles // *Genes and Development.* 2008. V. 22. P. 1690–1703.
85. Noton E., Diffley J.F. CDK inactivation is the only essential function of the APC/C and the mitotic exit network proteins for origin resetting during mitosis // *Mol. Cell.* 2000. V. 5. P. 85–95.
86. Nishitani H., Nurse P. p65<sup>cdc18</sup> plays a major role in controlling the initiation of DNA replication in fission yeast // *Cell.* 1995. V. 83. P. 397–405.
87. Schwed G., May N., Pechersky Y., Calvi B.R. *Drosophila* minichromosome maintenance 6 is required for chorion gene amplification and genomic replication // *Mol. Biology Cell.* 2002. V. 13. Issue 2. P. 607–620.
88. Treisman J.E., Follette P.J., O'Farrell P.H., Rubin G.M. Cell proliferation and DNA replication defects in *Drosophila* MCM2 mutant // *Genes Dev.* 1995. V. 9. P. 1709–1715.
89. Su T.T., O'Farrell P.H. Chromosome association of minichromosome maintenance proteins in *Drosophila* endoreduplication cycle // *EMBO J.* 1999. V. 18. P. 4476–4484.
90. Rodman T.C. DNA replication in salivary gland nuclei of *Drosophila melanogaster* at successive larval and prepupal stages // *Genetics.* 1967. V. 55. P. 375–386.
91. Truman J.W., Riddiford L.M. Endocrine insights into evolution of metamorphosis in insects // *Annu. Rev. Entomol.* 2002. V. 47. P. 467–500.
92. Britton J.S., Edgar B.A. Environmental control of the cell cycle in *Drosophila*: nutrition activated mitotic and endoreduplicative cells by distinct mechanisms // *Development.* 1998. V. 125. P. 2149–2158.
93. Власова И.Е., Кукнадзе И.И. Влияние циклогекси-мида на включение <sup>3</sup>H-тимидина в хромосомы слюнных желез *Chironotus thummi* на разных стадиях развития личинок // *Цитология.* 1975. Т. 17. № 5. С. 518–523.
94. Sinha P., Lakhota S.C. Replication in *Drosophila* chromosomes XI. Stimulation of initiation of polytene replication cycles *in vitro* by juvenile hormone // *Cell Different.* 1983. V. 12. P. 11–17.
95. Белоусова И.Б., Страшнюк В.Ю., Шахбазов В.Г. Вплив мегопрепу на ступінь політенії гігантських хромосом і прояви кількісних ознак у *Drosophila melanogaster* Meig. // *Вісник Львів. ун-ту. Серія біологічна.* 2004. Вип. 37. С. 125–130.
96. Danieli G.A., Rodino E. Incubazione *in vitro* con timidina-<sup>3</sup>H di ghiandele salivary di *Drosophila hydei* St. (Diptera), isolate a vari stadi di sviluppo // *Atti. Acad. Naz. Lincei, Cl. Sci. fis. mat. e nature.* 1968. V. 44. P. 123–126.
97. Darrow I.M., Clever U. Chromosome activity and cell function in polytenic cells // *Develop. Biol.* 1970. V. 21. P. 331–348.
98. Rudkin G.T. Cyclic synthesis of DNA in polytene chromosome in development and differentiation / Eds M. Balls, F. Billet. London: Cambr. Univ. Press, 1973. P. 279–292.
99. Crouse H.V. The role of ecdysone in “DNA-puff” formation of *Sciara coprophila* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1968. V. 61. P. 971–978.

100. Марченко А.Ю., Страшнюк В.Ю. Генетическая вариабельность степени политемии гигантских хромосом и действие 20ОН-экдистерона на эндоредупликацию у *Drosophila melanogaster* Meig. // Вісник Харків. Націон. Ун-ту імені В.Н. Каразіна. Серія: біологія. 2006. Вип. 3. № 729. С. 91–97.
101. Richards G. The radioimmunt assay of ecdysteroid titres in *Drosophila melanogaster* // Mol. Cell. Endocrinology. 1981. V. 21. P. 181–197.
102. Valente P., Tao W., Verbelen J.-P. Auxins and cytokinins control DNA endoreduplication and deduplication in single cell of tobacco // Plant Science. 1998. V. 134. P. 207–215.
103. Kwiatkowska M., Poplonska K., Kazmierczak A. et al. Role of DNA endoreduplication, lipotubuloids, and gibberellic acid in epidermal cell growth during fruit development of *Ornithogalum umbellatum* // J. Exp. Botany. 2007. V. 58. P. 2023–2027.
104. Frank M., Schmülling T. Cytokinin cycles cells // Trends in Plant Sci. 1999. V. 4. P. 243–244.
105. Riou-Khamlichi C., Huntley R., Jacquard A., Murray J.A.H. Cytokinin activation of *Arabidopsis* cell division through a D-type cyclin // Science. 1999. V. 283. P. 1541–1544.
106. Del Pozo J.C., Estelle M. Function of the ubiquitin-proteasome pathway in auxin response // Trends in Plant Sci. 1999. V. 4. P. 107–111.
107. King R., Deshaies R., Peters J.M., Kirschner M.W. How proteolysis drives the cell cycle // Science. 1996. V. 274. P. 1652–1659.
108. Буров Н.В. Механизмы гормональной регуляции линьки и метаморфоза // Тр. Всесоюз. энтомолог. об-ва. Л.: Наука, 1983. Т. 64. С. 44–63.
109. Ito S., Loewenstein W.R. Permeability of nuclear membrane: changes during normal development and changes induced by growth hormone // Science. 1965. V. 150. P. 909–910.
110. Kroeger H. Potentialdifferenz und Puff-Muster. Elektrophysiologische und Cytologische Untersuchungen an den Speicheldrüsen von *Chironomus thummi* // Exp. Cell. Res. 1966. V. 41. P. 64–80.
111. Yamamoto K., Chadarevian A., Pellegrini M. Juvenile hormone action mediated in male accessory glands of *Drosophila* by calcium and kinase C // Science. 1988. V. 239. P. 74–77.
112. Lezzi M., Gatzka F., Ineichen H., Gruzdev A.D. Transcriptional activation of puff site I-18C of *Chironomus tentans*: hormonal responsiveness changes in parallel with diurnal decondensation cycle // Chromosoma. 1991. V. 100. P. 235–241.
113. Шахбазов В.Г., Шкорбатов Ю.Г., Страшнюк В.Ю. Регуляция активности ядерного генома и биоэлектрические свойства хроматина и клеточного ядра // Докл. АН СССР. 1986. № 5. С. 1255–1258.
114. Белоусова И.Б., Страшнюк В.Ю., Шахбазов В.Г. Влияние гормонов развития насекомых на биоэлектрические свойства клеточных ядер дрозофилы в опытах *in vivo* и *in vitro* // Биол. вестник. 2004. Т. 8. № 2. С. 99–102.
115. Cheniclet C., Rong W.Y., Causse M. et al. Cell expansion and endoreduplication show a large genetic variability in pericarp and contribute strongly to tomato fruit growth // Plant Physiology. 2005. V. 139. P. 1984–1994.
116. Колесникова Л.С. Проллиферативные процессы у плодов тыквы крупной *Cucurbita maxima* Duch.: Автореф. дис... канд. биол. наук. Кишинев, 1984. 17 с.
117. Genard M., Bertin N., Borel C. et al. Towards a virtual fruit focusing on quality: modeling features and potential uses // J. Exp. Bot. 2007. V. 58. P. 917–930.
118. Страшнюк В.Ю., Ненейвода С.Н., Шахбазов В.Г. Цитоморфометрическое исследование политемных хромосом *Drosophila melanogaster* Meig. в связи с эффектом гетерозиса, отбором по адаптивно важным признакам и полом // Генетика. 1995. Т. 31. № 1. С. 24–29.
119. Страшнюк В.Ю., Аль-Хамед С., Ненейвода С.Н., Шахбазов В.Г. Цитогенетическое и цитобиофизическое исследование механизмов температурных адаптаций и эффекта гетерозиса у *Drosophila melanogaster* Meig. // Генетика. 1997. Т. 33. № 6. С. 793–799.
120. Журавлева Л.А., Страшнюк В.Ю., Шахбазов В.Г. Влияние плотности культуры на степень политемии гигантских хромосом инбредных линий и гибридов *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. 2004. Т. 38. № 3. С. 46–51.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ГУМОРАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ, РЕГУЛИРУЮЩИЕ ЭНДОЦИКЛ

© 2011 г. Л. А. Шакина, В. Ю. Страшнюк

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, Харьков 61022

e-mail: strashnyuk@univer.kharkov.ua

Поступила в редакцию 15.04.2011 г.

В обзоре приведены данные о молекулярно-генетических механизмах, контролирующих эндоредупликацию. Рассмотрены вопросы, касающиеся активности основных регуляторов клеточного цикла: циклинов, циклин-зависимых киназ и их ингибиторов в условиях модифицированного клеточного цикла политемных клеток. Проанализированы особенности регуляции в точках начала репликации, а также роль гормонов и фитогормонов в онтогенетическом контроле эндоредупликации.