Асланян Марлен Мкртичевич, доктор биологических наук, заслуженный профессор Московского университета, окончил биолого-почвенный факультет МГУ им. М.В. Ломоносова в 1954 г.

Научные интересы — мутационный процесс, генетика животных и человека, онкогенетика.

Читает курс лекций для студентов биологического факультета «Генетика» и спецкурсы для студентов-генетиков: «Генетика животных», «Основы мутагенеза и генотоксикологии»; ведет семинар «Современные проблемы генетики».

М.М. Асланян является одним из ведущих преподавателей кафедры генетики и внес большой вклад в реорганизацию преподавания генетики. Под его руководством успешно защищены 14 кандидатских диссертаций. Им опубликовано более 200 печатных работ.

М.М. Асланян является членом двух специализированных советов по защитам докторских диссертаций; членом редакционных советов журналов «Экологическая генетика» и «Биология в школе». Он также является научным руководителем секции «Биология» Российской конференции молодых исследователей «Шаг в будущее», председателем секции «Генетика» Московского общества испытателей природы, членом Вавиловского общества генетиков и селекционеров.

Солдатова Ольга Павловна, кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, закончила аспирантуру кафедры генетики и защитила кандидатскую диссертацию в 1980 г. Научные интересы связаны с генетикой устойчивости растений к стрессовым факторам и мутационным анализом индуцированных мутантов арабидопсис. Читает лекции по генетике растений и генетике пола, ведет семинары и практические занятия по общей генетике. Опубликовано более 40 научных работ. Является членом общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова (ВОГиС) и Московского общества испытателей природы (МОИП).

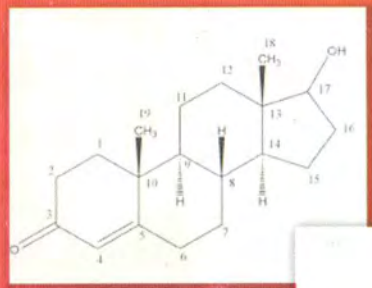
9 785919 020011

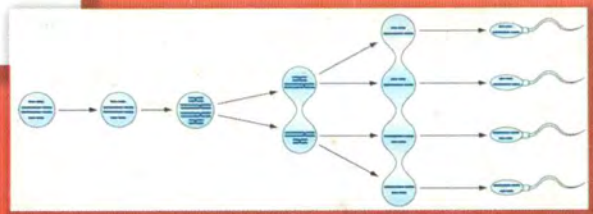
Авторская Академия

М.М. Асланян, О.П. Солдатова ГЕНЕТИКА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ПОЛА

М.М. Асланян
О.П. Солдатова

ГЕНЕТИКА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ПОЛА





М.М. Асланян
О.П. Солдатова

ГЕНЕТИКА
и происхождение пола

Учебное пособие

Допущено Учебно-методическим объединением по классическому университетскому образованию в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по направлению «биология»

Авторская академия

Москва ❖ 2010

УДК 575.18
ББК 28.03/28.04
А 90

Асланян М.М., Солдатова О.П.

Генетика и происхождение пола. Учебное пособие для студентов, обучающихся по направлению «биология». – М.: Авторская академия; Товарищество научных изданий КМК, 2010. – 114 с.

ISBN 978-5-91902-001-1

Пособие посвящено одной из основных проблем современной биологии – происхождению и эволюции полового размножения и его основной функции – поддержания генетического разнообразия. Рассмотрены молекулярно-генетические механизмы детерминации и дифференцировки пола на различных модельных объектах, что позволило показать их многообразие и независимое возникновение пола в различных таксонах, а также выявить общие универсальные принципы при формировании пола. Особое внимание уделено происхождению пол-детерминирующих генов и их роли в формировании гетероморфных половых хромосом. Показаны различные молекулярно-генетические механизмы с участием большого числа взаимодействующих генов в каскадной цепи формирования признака «пол». Пособие предназначено для студентов биологических, медицинских и профильных вузов.

ISBN 978-5-91902-001-1

© Авторская академия, 2010
© Товарищество научных изданий КМК, 2010
© М.М. Асланян, О.П. Солдатова, 2010

Посвящается светлой памяти наших отцов, участников Великой Отечественной Войны 1941–1945 гг. Мкртичу Мартиросовичу Асланяну и Павлу Кузьмичу Солдатову

Введение

Проблема определения пола представляет собой один из интереснейших и увлекательных разделов биологии, с которой сталкиваются врачи, биологи, специалисты сельского хозяйства. Наконец, любознательность всех людей в одинаковой мере занимают самые общие и очевидные вопросы: почему в одних случаях рождаются мальчики, а в других – девочки; почему из 3–4 десятков инкубированных яиц вылупляются петушки и курочки примерно поровну, т.е. в соотношении 1:1; а можно ли по желанию получать потомство одного пола (женского или мужского); почему гермафродитизм у нематоды и цветковых растений – нормальное явление, а у млекопитающих – аномальное?

На протяжении всей истории развития человечества выдвигались сотни умозрительных гипотез определения пола. Научная разработка проблемы определения пола началась лишь в начале XX века на основе хромосомной теории наследственности. Хромосомное определение пола, поиск и выявление генов, контролирующих развитие такого сложного комплексного признака как пол, позволило понять эволюцию возникновения пола и молекулярные механизмы его определения.

Однако до сих пор остается непонятным эволюционная значимость дифференцировки на аутосомы и гетероморфные половые хромосомы. Ведь для определения пола вполне достаточно одного аутосомного двухаллельного гена-триггера; соотношение 1:1 автоматически получается при анализирующем скрещивании гетерозиготы (Аа) с рецессивной гомозиготой. До сих пор нет ясности, какие принципы лежат в основе гетероморфизма половых хромосом, какие гены, локализованные в X-хромосоме, Y-хромосоме и аутосомах, участвуют в генетическом контроле определения пола. В 70-х годах прошлого века советский ученый В.А. Геодакян предложил оригинальную концепцию роли половых хромосом (ПХ), основанную на идее их асинхронной эволюции. По его мнению, в рамках адаптогенеза Дарвина эволюция системы следует за изменением среды и осуществляется методом проб и ошибок. Поэтому выгоднее «экспериментировать» не на системе в целом, а только на ее части.

Для этого необходимо разделить систему на две подсистемы, одну «убрать» подальше от среды с тем, чтобы лучше сохранить **прошлое**, а вторую выдвинуть поближе к среде, чтобы легче «узнать», что требуется **в настоящем** и что может понадобиться **в будущем**. По словам В.А.Геодакяна: «В эволюции половых взаимоотношений возникшая разделенность – экономичная форма информационного контакта со средой, специализирующаяся по главным линиям эволюции – консервативной и оперативной. Повышенная смертность – выгодная форма информационного контакта со средой». Если среда поставила свой штамп ОТК на данном наборе генов (генотипе), у его носителя есть все шансы активно распространить свои гены в последующем поколении. Женский пол всегда по этому параметру ограничен. А у мужской особи может быть сотни потомков. К примеру, у султана Османской империи Маули Исмаила (1640–1727) было 548 детей мужского пола и 340 – женского.

Мужской и женский пол по-разному реагируют на появление экологического дифференциала (движущего отбора). Более широкая норма реакции женских особей позволяет им на базе старого генотипа, только за счет онтогенетической пластичности, создать более адаптивный фенотип и покинуть зону отбора. Узкая норма реакции мужских особей такой возможности не дает. Это приводит к тому, что экологический дифференциал действует в основном на мужской пол. Падает его численность и меняется распределение генотипов, т.е. одна и та же экологическая информация модифицирует женский пол и элиминирует мужской.

Многоклеточные организмы в своем эволюционном развитии выработали механизм, который позволил обеспечивать высокий уровень генетического разнообразия, увеличения пластичности и выживаемости вида. Этот механизм связан с формированием специализированных клеток (гамет) и комплекса признаков воспроизведения организма, которые подвергались действию естественного отбора, начиная с ранних примитивных форм жизни, вплоть до ныне существующих высокоорганизованных высших растений и животных, включая и человека.

Замечание Ч.Дарвина о том, что естественный отбор действует «здесь и в данное время», является основой разнонаправленного вектора развития и возможности оценки действенности отбора в следующем поколении. Ч.Дарвин в работе «Происхождение человека и половой отбор» обратил внимание на бисексуальность потенциального развития пола, что увеличивает шансы на оставление потомства при изменении условий жизни, он писал: «Известно, что в позвоночном царстве у одного пола встречаются рудименты различных, придаточных частей, принадлежавших собственно к половой системе

противоположного пола; теперь найдено, что в очень ранний зародышевый период у обоих полов находятся настоящие мужские и женские железы. Отсюда можно заключить, что какой-нибудь очень отдаленный предок позвоночного царства был гермафродитом, или слитнополым… Это кажется крайне невероятным; будь это так, следовало бы ожидать, что между членами низшего класса, а именно между рыбами найдутся и в настоящее время гермафродитные формы». Этот феномен подтвержден современными молекулярно-генетическими исследованиями. Появление полового размножения существенно ускорило темпы эволюционного развития и увеличило биоразнообразие. Подобное явление в эволюции органического мира А.Н.Северцов обозначил термином «ароморфоз».

В эволюции многоклеточных организмов появление полового диморфизма и, соответственно, мужских и женских репродуктивных систем было подхвачено естественным отбором и реализовалось в различных механизмах определения пола в зависимости от конкретных условий существования биологического вида.

Существование двух полов, мужского и женского, является результатом последовательных преобразований первичных клеточных структур, которые происходят на ранних стадиях эмбриогенеза у животных, и на определенных стадиях онтогенеза у растений. Проявление признака пола связано со структурными и функциональными особенностями организма, которые обеспечивают формирование гамет, оплодотворение и развитие эмбриона. С очевидностью следует, что пол является сложным комплексным признаком, контролируемым десятками генов. Включение программы развития пола должно осуществляться определенным фактором (сигналом). Природа этих сигналов может быть генетической (GSD genetic sex determining factor) или связана с факторами окружающей среды (ESD environment sex determining factor). После детерминации пола, который определяется сигнальным фактором, включается программа дифференцировки пола, в которой участвуют до сотни последовательно взаимодействующих генов.

Генетические факторы детерминации пола, как у животных, так и у растений, представляют достаточно широкий спектр – от серии аллелей одного гена до полигенных локусов специфически обособленных половых хромосом. Ключевым событием в эволюции половых хромосом является их генетическая дифференциация, причина которой – появление структурных различий между изначально изоморфными гомологами. Сходство результатов эволюционных преобразований половых хромосом, несомненно, связано с универсальностью структурно-функциональной организации генетического материала у эукариот и механизмами, действующими на молекулярном уровне.

Глава 1 Половое размножение и его биологическое значение

Эволюционное значение возникновения полового размножения. Формы полового размножения. Мейоз как основной механизм образования мужских и женских гамет. Основные генетические функции мейоза. Наследование признаков, сцепленных с полом

1.1. Эволюционное и приспособительное значение полового размножения

Универсальность полового размножения обеспечивает комбинативную изменчивость всех жизненных форм. Пол как признак с физическим разделением структур, производящих гаметы, наиболее ярко выражен у многоклеточных организмов. Одноклеточные эукариоты, которые в силу своей организации не могут иметь специализированные структуры для образования гамет, имеют наряду с бесполым размножением разные типы спаривания, что, несомненно, способствует реализации генетической рекомбинации. У прокариот также существуют различные механизмы для обеспечения рекомбинации – это трансформация, конъюгация и трансдукция.

Преимущества полового размножения по сравнению с бесполым проявляются в приспособленности и более низких уровнях мутирования. Так, в эксперименте на линиях дрожжей с разным типом спаривания было показано, что приспособленность к жестким условиям культивирования после 100 поколений была значительно выше в сексуальных линиях, по сравнению с вегетативно размножающимися. Еще одно несомненное преимущество полового размножения обнаруживается при анализе уровней повреждающего действия мутаций. Высокая частота мутаций была выявлена в партеногенетических популяциях водяной блохи (*D. pulex*), в то время как в популяциях, сформированных в результате полового размножения, этот уровень был на 25% ниже. Это может быть связано с действием гаметического отбора, работы систем репарации генетических повреждений в процессе мейотического деления.

В эволюции многоклеточных организмов появление полового диморфизма и, соответственно, мужских и женских репродуктивных систем несомненно коэволюционировало с механизмами клеточных делений, которые и обеспечивают реализацию основной функции полового размножения – генетической рекомбинации.

1.2. Мейоз и его основные функции. Гаметогенез

Одним из основных свойств живой клетки является способность к самовоспроизведению путем деления. В природе организмы могут размножаться путем простого деления (бесполое размножение) и с помощью специализированных мужских и женских половых клеток – яйцеклеток и сперматозоидов (половое размножение). В процессе эволюции организмов выработались два типа деления – митотическое и мейотическое. **Митозом** называется процесс деления ядра клетки, в результате которого из одной клетки образуются две дочерние, причем число хромосом в каждой из них соответствует числу хромосом в исходной родительской. Таким способом размножаются многие простейшие эукариотические организмы (амеба, инфузория-туфелька и др.).

Среди многоклеточных животных митотическое деление характерно для сидячей формы полипов, образующих колонии. У растений при бесполом размножении образуются споры и зооспоры. Бесполым путем размножаются грибы и водоросли, при этом из спор может вырасти такая же особь. У высших споровых растений из спор образуется заросток. В редких случаях клетки делятся амитотически, но при этом генетический материал распределяется неравномерно. Клетка, претерпевшая амитоз, в дальнейшем не способна вступить в нормальный митотический процесс. В норме он наблюдается в высокоспециализированных тканях, в клетках, которым уже не предстоит делиться: в клетках эпителия и печени позвоночных, в зародышевых оболочках млекопитающих, в клетках эндосперма семени растения. Амитозом также часто делятся клетки злокачественных опухолей.

Мейоз – это два последовательных деления ядра с образованием гамет, несущих гаплоидное число хромосом. Первое деление – редукционное, уменьшающее число хромосом вдвое, диплоидные клетки становятся гаплоидными. Второе – эквационное (уравнительное) деление, завершающееся делением центромер. Фазы мейоза, относящиеся к первому делению, принято обозначать римской цифрой I, а ко второму – II. Во время мейоза изначально диплоидная клетка делится дважды, в то время как хромосомы удваиваются

лишь 1 раз. В результате число хромосом в гамете становится гаплоидным. Гаметы образуются из специализированных клеток репродуктивных органов – клеток-предшественников (первичные зародышевые клетки – ПЗК).

В профазе I мейоза по мере развития процесса спирализации обнаруживается двойственность хромосом, что означает удвоение генетического материала еще в интерфазе в ходе репликации ДНК. Затем удвоенные гомологичные хромосомы начинают притягиваться друг к другу гомологичными участками. Это взаимное притяжение называют конъюгацией или синапсисом. Поведение хромосом на этой стадии мейоза отличается от их поведения в профазе митоза, где гомологичные хромосомы не конъюгируют. Две проконъюгировавшие гомологичные хромосомы составляют бивалент, представленный 4-мя хроматидами. Хроматиды гомологичных хромосом называются несестринскими.

На следующей стадии происходит перекручивание хромосом с последующим взаимным отталкиванием. При расхождении хромосом происходит их раскручивание и образование Х-образных фигур, называемых хиазмами. На этом этапе между несестринскими хроматидами гомологичных хромосом происходят обмены, называемые кроссинговером. Генетическими исследованиями было показано, что кроссинговер происходит на стадии 4 хроматид, при этом в данной точке обмениваются гомологичными участками только 2 хроматиды.

На последней стадии профазы I биваленты обособляются и их число становится равным гаплоидному, центромеры гомологичных хромосом ориентируются в плоскости экватора веретена деления, что соответствует метафазе I. В анафазе I гомологичные хромосомы бивалентов расходятся к противоположным полюсам, вследствие чего число хромосом в дочерних ядрах уменьшается в 2 раза. Важно подчеркнуть, что отцовская и материнская хромосомы каждой пары (биваленты) могут отходить равновероятно к любому из двух полюсов, но если одна отходит к одному полюсу, то вторая – к другому (за редким исключением наблюдается нерасхождение гомологичных хромосом). Негомологичные хромосомы расходятся к полюсам случайным образом.

В первом мейотическом делении к каждому полюсу отходит по одной хромосоме из гомологичной пары, при этом негомологичные хромосомы распределяются по полюсам случайно и независимо, что обеспечивает проявление комбинативной изменчивости. Возможное число комбинаций сочетания материнских и отцовских хромосом закладывается именно в первом

делении, которое можно выразить как 2^n, где n – гаплоидный набор хромосом. Так, у человека возможное число комбинаций отцовских и материнских хромосом будет составлять 2^{23}, т.е. несколько миллионов. Еще одно важное событие, которое происходит в первом мейотическом делении – обмен гомологичными участками гомологичных хромосом – кроссинговер, который также вносит вклад в общую изменчивость и обеспечивает генетическую рекомбинацию. После первого деления образуются 2 клетки с гаплоидным набором хромосом.

Второе деление мейоза аналогично митотическому, каждая клетка делится по центромере и образуются 4 гаплоидные клетки.

Следует отметить генетическое значение мейоза, которое заключается:

1) в обеспечении постоянства числа хромосом в разных поколениях организмов, размножающихся половым путем;

2) в поддержании генетического разнообразия за счет случайного расхождения негомологичных хромосом и кроссинговера;

3) в равновероятном распределении гомологичных хромосом в гаметы.

Гаметогенез. *Оогенез* происходит в яичниках в три фазы: размножение, рост и созревание. Первая фаза – размножение, клетки диплоидной ткани зачаткового эпителия многократно делятся путем митоза, образуя диплоидные же клетки ооциты I порядка ($2n$). Вторая фаза – рост, ооциты I порядка проходят интерфазу, в ходе которой осуществляется самоудвоение молекулы ДНК и построение второй хроматиды у хромосом, а также рост клетки, в результате чего формируются ооциты I порядка ($2n$). Третья фаза – созревание, ооциты I порядка делятся путем мейоза. В результате мейоза I образуется ооцит II порядка и первое направительное (полярное) тельце. Второе деление – мейоз II – доходит до стадии метафазы. В том случае, если произойдет оплодотворение, из ооцита II порядка образуются яйцеклетка и второе направительное тельце. Таким образом, из каждого ооцита I порядка образуются 4 клетки – яйцеклетка и 3 направительных тельца (n). Первые две фазы оогенеза проходят в женском организме в период его зародышевого развития. Третья фаза длится много лет. Так, первое мейотическое деление у девочки начинается сразу после ее рождения, в результате чего образуются ооциты II порядка и первые направительные тельца (рис. 1).

В период полового созревания ооциты II порядка проходят второе мейотическое деление, в ходе которого образуется яйцеклетка и 3 направительных тельца (отмирающие). Направительные тельца дают возможность пройти нормальному мейозу, сбросить излишний ядерный материал, оставив ци-

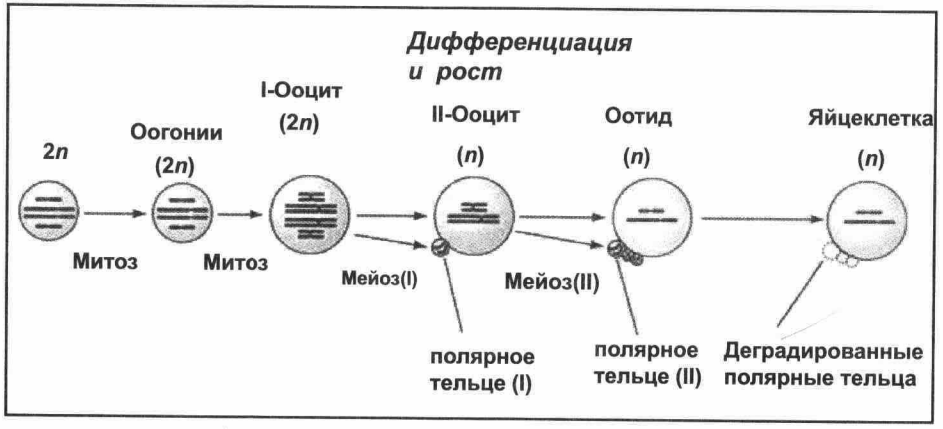


Рис. 1. Схема оогенеза. При оогенезе из диплоидной первичной зародышевой клетки образуется 1 яйцеклетка, 3 направительных тельца деградируют

топлазму с запасом питательных веществ яйцеклетке, что необходимо для питания зародыша.

Сперматогенез подразделяется на три фазы: размножение, рост, созревание. Первая фаза – размножение, клетки диплоидной ткани зачаткового эпителия (2*n*) многократно делятся путем митоза, образуя диплоидные сперматоциты I порядка с однохроматидными хромосомами (2*n*). Вторая фаза – рост сперматозоидов I порядка в процессе прохождения ими интерфазы, в результате

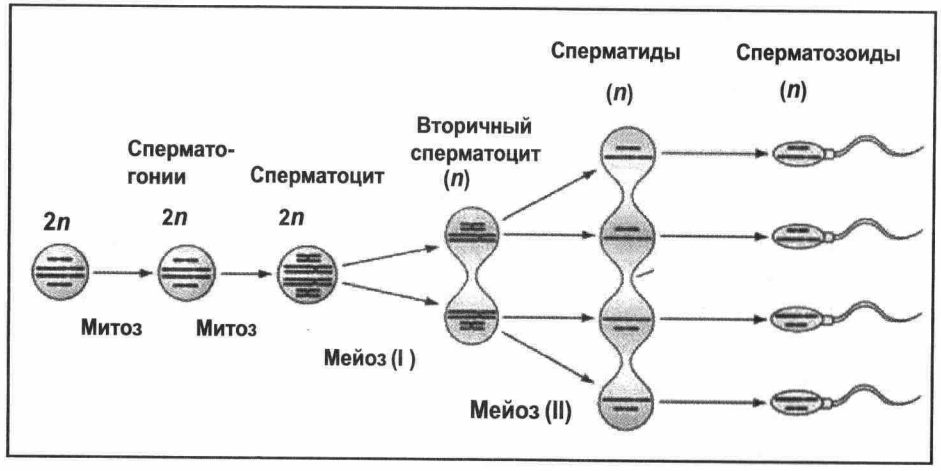


Рис. 2. Схема сперматогенеза. При сперматогенезе из диплоидной клетки образуются 4 сперматозоида

чего происходит самоудвоение молекулы ДНК и построение второй хроматиды у хромосом – (2*n*). Третья фаза – созревание, сперматоциты I порядка делятся путем мейоза. При первом делении (MI) из каждого сперматоцита I порядка образуются 2 сперматоцита II порядка (*n*), при втором делении (MII) из них образуются сперматиды (*n*). Они больше не делятся, а превращаются в сперматозоиды (рис. 2).

1.3. Формы полового размножения

Половое размножение имеет несколько разновидностей, которые связаны с образованием зародыша из неоплодотворенной яйцеклетки. Эти типы полового размножения считаются нерегулярными и встречаются как у животных, так и у растений, но имеют свои особенности проявления. У растений это называется апомиксисом, у животных – партеногенезом. Многообразие способов размножения организмов показано в табл. 1.

Апомиксис (агамоспермия) **–** образование зародыша без оплодотворения. Размножение, при котором сохраняются внешние признаки полового процесса при образовании семян, но отсутствуют основные – мейоз, крос-

Таблица 1

Способы размножения организмов

Половое размножение			Бесполое размножение	
с участием гамет		без участия гамет	собственно бесполое	вегетативное
С оплодотворением: 1. Изогамия 2. Гетерогамия 3. Оогамия	Без оплодотворения Партеногенез Апомиксис	1. Гаметангиогамия 2. Конъюгация 3. Апогамия 4. Гологамия	1. Эндогенные споры (споры, зооспоры) 2. Экзогенные споры (конидиоспоры) 3. Шизогамия 4. Почкование кишечнополостных 5. Фрагментация (плоские черви, кишечнополостные) 6. Личиночное размножение (паразитические черви)	1. Грибы: части мицелия, почкование (дрожжи), склероции (спорынья), 2. Растения: (черенками, усами, корневищами, луковицами и др.)

Источник: [Т.Л.Богданова, Е.А.Солодова, 2008]

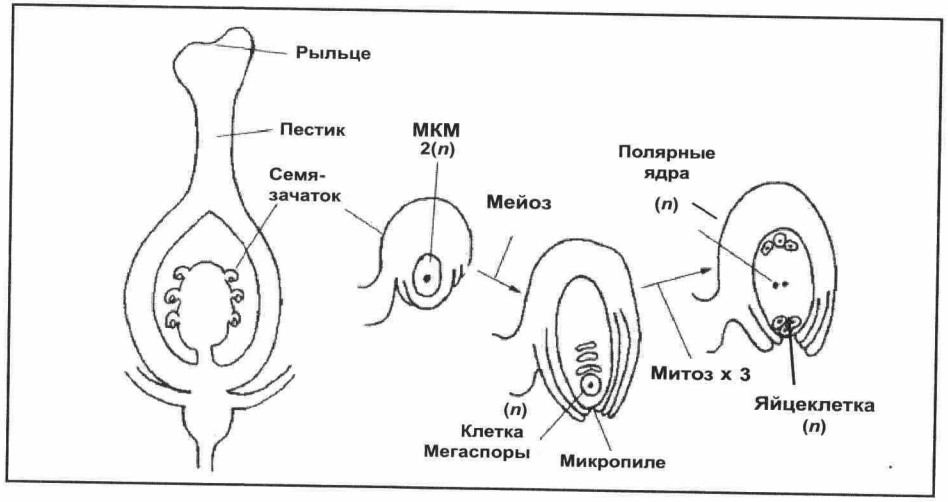


Рис. 3. Формирование яйцеклетки у покрытосеменных растений

синговер и оплодотворение, поэтому апомиксис правомерно приравнивают к вегетативному размножению. Выделяют два основных типа апомиксиса – гаметофитный и спорофитный с различными вариациями. Поэтому происхождение и генотипы апомиктичных семян могут различаться.

Для представления процесса формирования апомиктичных семян необходимо обратиться к схеме двойного оплодотворения, которое было открыто и описано С.Г.Навашиным (1898).

Двойное оплодотворение – это половой процесс у покрытосеменных растений, при котором оплодотворяются как яйцеклетка, так и централь-

(МКМ) Материнская клетка мегаспоры (2n)
↓
Мейоз (*n*)
↓
Одна клетка мегаспоры
↓
Три Митотических деления

Зародышевый мешок
7 клеток с 8 ядрами:
Три антиподы, 2 синергиды, 1 центральная клетка с двумя полярными ядрами, 1 зародышевая клетка

Рис. 4. Общая схема формирования зародышевого мешка у покрытосеменных растений

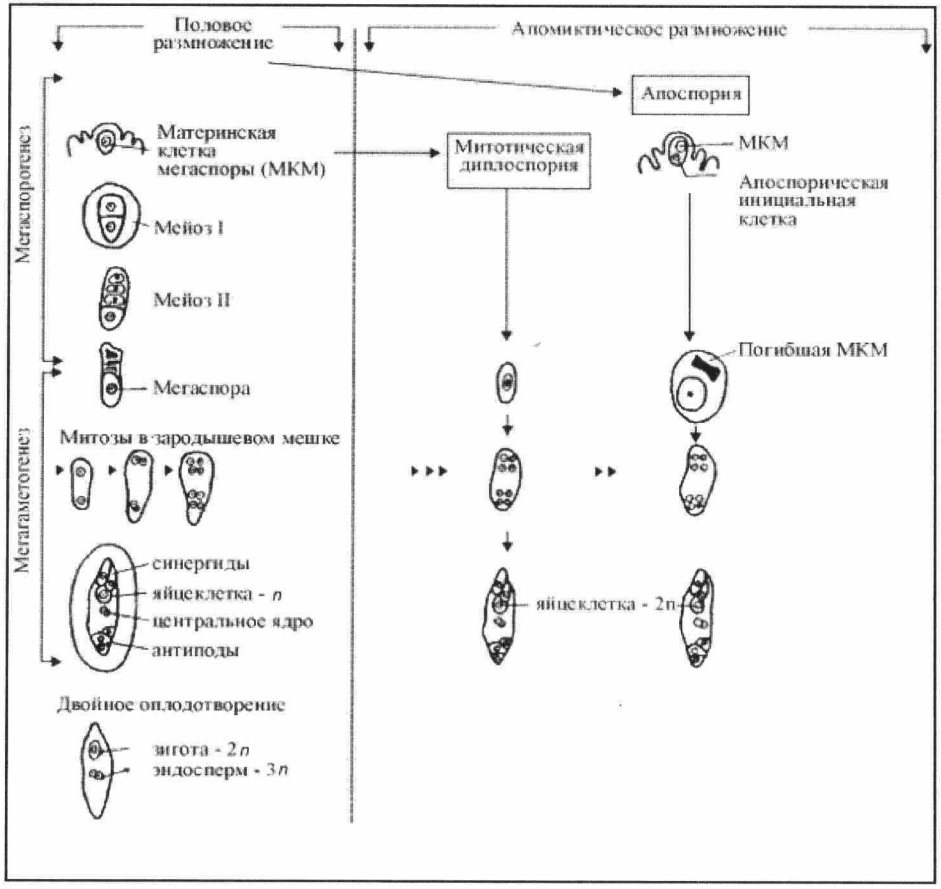


Рис. 5. Схема образования семян половым путем в результате двойного оплодотворения (а) и при апомиксисе (б)

ная клетка зародышевого мешка. Зародышевый мешок формируется в результате мейотического деления мегаспороцита (клетка семязачатка) и затем 3-х митотических делений одной из 4-х гаплоидных клеток – материнской клетки мегаспоры (МКМ). Сформированный из этой клетки зародышевый мешок представляет 8-ядерную 7-клеточную структуру и является зрелым женским гаметофитом, готовым к оплодотворению (рис. 3–5).

Нарушение каждого из этапов при формировании нормального зародышевого мешка может приводить к возникновению апомиктичных семян.

Наиболее распространен *гаметофитный апомиксис*, когда зародыш образуется из нередуцированных клеток зародышевого мешка. Одной из его форм является митотическая диплоспория, когда отсутствует мейоз при формировании материнской клетки мегаспоры, но сохраняется следующая стадия из трех митотических делений с репликацией хромосом. Поэтому сформированная яйцеклетка имеет двойной, а не гаплоидный, как при половом размножении, набор хромосом и далее идет развитие без оплодотворения, а из центральной двуядерной клетки развивается тетраплоидный эндосперм. Поэтому образовавшиеся семена представляют абсолютные копии материнских генов, т.е. являются клонами.

При *спорофитном апомиксисе* (апоспория, адвентивная эмбриония) зародыш формируется непосредственно из нередуцированных спорофитных клеток, а материнская клетка мегаспоры замещается одной из окружающих ее клеток, которая также претерпевает три митотических деления. Далее все протекает так же, как и при митотической диплоспории и получением точной копии материнского организма (см. рис. 5).

Таким образом, любой биотип, обладающий при данных условиях среды способностью к апомиксису, может воспроизводиться в массовом количестве. Апомиксис исключает генетическое расщепление, поэтому апомиктичные формы образуют клоны, в пределах которых все особи обладают одинаковой генетической конституцией. Ярким примером таких апомиктичных клонов с образованием семян служат различные виды одуванчика (*Taráxacum*), отличающиеся высокой жизнеспособностью.

Апомикты, лишившись способности к рекомбинации генов, не обладают достаточной генетической пластичностью, необходимой для приспособления к новым условиям. Поэтому виды, размножающиеся половым путем, к изменениям среды приспосабливаются легче и быстрее, чем апомикты. В этих условиях апомикты часто вымирают. Но это касается только случаев полного апомиксиса. Когда же апомиксис встречается только частично, а другая часть потомства образуется половым путем, как у псевдогамных видов ежевики, лапчатки или мятлика, растения получают определенное преимущество от апомиксиса и в то же время хотя бы частично сохраняют способность к генетическим рекомбинациям.

Если в дикой природе комбинативная изменчивость является необходимым компонентом устойчивости и приспособляемости вида, то у культурных сортов она часто весьма нежелательна, так как разрушает ценные комбинации генов, контролирующих хозяйственно полезные признаки, по крупицам собираемые поколениями селекционеров. Поэтому существует необходимость в отдельных случаях переходить к апомиктичному размножению. Кроме того, размножение через семена, в отличие от вегетативного, служит мощным барьером против клеточных инфекций.

Партеногенез. Разновидностью полового размножения является партеногенез (греч. *partenos* – девственница, *genesis* – возникновение), при котором новый организм развивается из материнской половой клетки без оплодотворения. Партеногенез возник в процессе эволюции у раздельнополых организмов. В тех случаях, когда какие-то виды представлены (всегда или периодически) только самками, одно из главных биологических преимуществ партеногенеза заключается в ускорении темпа размножения вида. Партеногенетическое размножение описано для тлей, дафний, ящериц, некоторых рыб и других животных. Образование яйцеклетки при партеногенезе, как правило, происходит путем обычного митотического деления, без редукции числа хромосом и их перекомбинирования. Развивающиеся организмы при этом полностью идентичны материнскому. Различают естественный и искусственный партеногенез. Обычно при партеногенезе рождается потомство одного пола – или только самки (телитокия) или только самцы (арренотокия). Редко встречается рождение потомства двух полов (амфитокия, дейтеротокия). Партеногенез в природе аналогичен апомиксису и известен у ряда представителей животных (черви, насекомые, рыбы и пресмыкающиеся).

В 60-е годы в США было обнаружено, что у мелких белых индеек часть яиц развивается без оплодотворения. Оказалось, что все птицы, которые выводятся из этих яиц, – самцы. Этот факт легко понять. У индеек самцы имеют две половые хромосомы (генотип ZZ), а самки – одну (их генотип Z0). Половина яйцеклеток несет одну половую хромосому Z, а половина – ни одной. При партеногенезе из первой половины яйцеклеток при удвоении числа хромосом выводятся самцы. А вторая половина яйцеклеток, лишенных хромосом Z, не дает жизнеспособных эмбрионов.

У дрозофилы при помощи отбора удалось вывести партеногенетическую линию, в которой около 7% яиц успешно развивались без оплодотворения и давали фертильных самок. Частота партеногенеза в линиях, не подвергавшихся отбору, была порядка 10^{-3}.

Механизм партеногенеза изучен мало, однако теоретически возможны два сценария его развития. Первый, так называемый аутомиксис, также предполагает мейоз, однако образовавшиеся гаметы попарно соединяются друг

с другом. При этом зигота может получить либо копии обеих материнских хромосом (центральное слияние), либо две копии одной из них (терминальное слияние).

Вторая форма, эндомитоз, с мейозом не связана. В этом случае происходит так называемое премейотическое удвоение хромосом с последующим делением клетки. Каждая дочерняя клетка получает точную копию генома матери (собственно, аналогично происходит и столь популярное сейчас клонирование). Именно этот механизм лежит в основе партеногенеза у однополых ящериц. У двуполых видов, у которых партеногенез отмечается лишь в отдельных случаях, он, очевидно, определяется аутомиксисом. Таким образом, особенностью партеногенетического и апомиктичного размножения является отсутствие обмена генетической информацией, как и при бесполом размножении.

Гиногенез представляет собой случай партеногенеза, при котором осеменение необходимо, но ядро проникшего в яйцеклетку спермия инактивируется в плазме яйца и развитие зародыша протекает под контролем только женского ядра. Следовательно, для возникновения естественного гиногенеза, следовательно, необходимо сочетание двух мутаций: вызывающих генетическую инактивацию спермия и поддерживающих соматическое число хромосом в яйцеклетке.

Гибридная гипотеза возникновения партеногенеза у шелкопряда, предложенная в 1940 г. Б.Л.Астауровым, в последующие годы получила подтверждение на позвоночных. Такими методами анализа, как кариотипирование, включая дифференциальную окраску хромосом, электрофорез и трансплантация тканей, в сочетании с традиционными подходами, подтвердили несомненное гибридное происхождение большей части одноположенских форм у позвоночных животных и позволили в некоторых случаях идентифицировать давшие им начало исходные бисексуальные виды. Гибридное происхождение имеют почти все одноположенские формы у рыб, все гиногенетические формы амфибий и диплоидные партеногенетические ящерицы рода *Lacerta*, 7 диплоидных и триплоидных ящериц рода *Cnemidophorus*.

Любой из известных способов размножения, ведущий к однополости (гибридогенез, гиногенез, партеногенез), может быть прямым результатом гибридизации. В природных одноположенских популяциях рыб были выявлены два способа размножения, ведущих к возникновению однополости: гиногенез и гибридогенез. Гиногенетические и гибридогенные самки обитают совместно с близкими (предположительно исходными) бисексуальными

видами и размножаются с участием их самцов. Цитогенетические особенности гибридогенных и гиногенетических форм глубоко различны.

Андрогенез – это развитие яиц с участием только одних ядер спермиев, поскольку женское ядро в таких яйцах устраняется из развития различными воздействиями. Одной такой возможностью является получение генетически идентифицированных копий. Партеногенетические самки, как уже отмечалось, являются точными копиями своей матери. Гораздо сложнее получить генетические копии самцов. Возможность их получения предсказывалась Б.Л.Астауровым еще в 1940 г. Эту проблему удалось решить В.А.Струнникову только после того, как были разработаны совершенные методы получения самцов мейотического и андрогенетического происхождения. Партеногенетические самцы мейотического типа гомозиготны буквально по всем генам. Следовательно, их гаметы также полностью идентичны. Андрогенетические зародыши возникают в результате слияния двух спермиев. Нетрудно рассчитать, что все андрогенетические потомки полностью гомозиготного самца будут генетически подобны друг другу и отцу.

1.4. Наследование признаков, сцепленных с полом

Впервые явление наследования признаков, сцепленных с полом, было обнаружено в лаборатории Т.Моргана при реципрокных скрещиваниях мух, отличающихся окраской глаз (белоглазые и красноглазые). Реципрокные скрещивания представляют собой систему из двух скрещиваний, одно из которых условно называют прямым, а второе – обратным. Если в прямом направлении самки были красноглазые, то в обратном – белоглазые. Соответственно самцы в прямом направлении скрещивания были белоглазые, а в обратном – красноглазые (рис. 6).

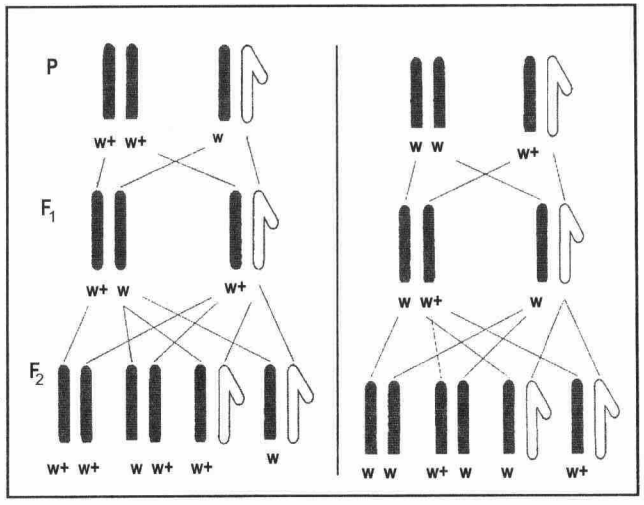


Рис. 6. Схема скрещивания: *слева* – самки w^+/w^+ с самцами Y/w; *справа* – самки w/w (белоглазые) с самцами Y/w^+ (красноглазые);

Уже в F_1 можно наблюдать различные проявления признаков: в прямом – единообразие (все самки и самцы красноглазые), а в обратном – наследование крисс-кросс, когда рецессивный признак матери проявляется у сыновей, а доминантный от отца – у дочерей. В F_2 также проявляются различия в расщеплении по признаку с учетом пола: в прямом 3/4 – красноглазые (♂♀) : 1/4 – белоглазые (♂), и 1/2 – красноглазые (♂♀) : 1/2 – белоглазые (♂♀) в обратном.

Признаки, контролируемые генами, локализованными в половых X и Y-хромосомах, получили название сцепленных с полом. У человека признаки, наследуемые через Y-хромосому, могут быть только у лиц мужского пола, а наследуемые через X-хромосому, – у лиц как одного, так и другого пола. Особь женского пола может быть как гомо- так и гетерозиготной по генам, локализованным в X-хромосоме. А рецессивные аллели генов у нее проявляются только в *гомозиготном* состоянии. Поскольку у особей мужского пола только одна X-хромосома, то все локализованные в ней гены, даже рецессивные, сразу же проявляются в фенотипе. Такой организм называют *гемизиготным*.

Если гены локализованы в непарной Y-хромосоме гетерогаметного самца, то обусловливаемые ими признаки наследуются лишь сыновьями, а при локализации генов в W-хромосоме гетерогаметной самки — только дочерьми. Такой тип наследования признаков называется *голандрическим*.

Если в X-хромосоме возникнет рецессивная летальная мутация, то у гетерозиготной самки она фенотипически не проявится, гомозиготные же особи по этой летальной мутации погибнут. Гемизиготность самцов с подобной мутацией приведет к летальному исходу. Сцепленные с полом летали – это гены, обусловливающие смертельный исход при развитии организма. При гетерогаметности женского пола от леталей, локализованных в X-хромосоме, гибнет половина дочерей, а при гетерогаметности мужского пола – половина сыновей. На этом принципе Г. Меллер сконструировал линии дрозофилы CLB и Meller-5 для оценки количественного учета рецессивных, сцепленных с полом леталей. Иногда мутантные гены в X и Z-хромосомах лишь частично снижают жизнеспособность потомства или вызывают различные заболевания, наиболее часто проявляющиеся у гетерогаметного пола. У человека обнаружено свыше 50 сцепленных с полом мутаций, приводящих большей частью к нарушению нормальной жизнедеятельности организма.

Таблица 2

Генотипы и фенотипы потомков при первичном нерасхождении X-хромосом у белоглазых самок дрозофилы

Гаметы самки	Гаметы самца	
	X^{w+}	Y
Регулярные X^w	X^w / X^{w+} ♀ *(красноглазые)*	X^w/Y ♂ *(белоглазые)*
Исключительные $X^w X^w$	X^wX^w/X^{w+} ♀ *(красноглазые)*	X^wX^w/Y ♀ *(белоглазые исключительные)*
O	O/ X^{w+} ♂ *красноглазые*	O/Y *нежизнеспособны*

Нерасхождение половых хромосом. В лаборатории Т. Моргана при анализе потомков F_1 от скрещивания белоглазых самок с красноглазыми самцами наблюдалось наследование, отличающееся от наследования менделирующих признаков, а именно, в варианте обратного скрещивания вместо единообразия по окраске глаз (красноглазые самки и самцы) проявилось расщепление (1/2 красноглазые : 1/2 белоглазые), причем красноглазые были только самки, а белоглазые – самцы. При получении большого числа потомков F_1 (2–3 тыс. мух), изредка появлялись 2–3 исключительные самки (белоглазые) и 2–3 исключительных самца (красноглазые). Этот феномен К.Бриджес объяснил нерасхождением половых хромосом в мейозе (табл. 2).

Явление нерасхождения половых хромосом в мейозе у дрозофилы позволило объяснить феномены двух наследственных синдромов у человека: синдром Клайнфельтера (XXY) и синдром Шерешевского-Тернера (XO).

Анеуплоидия хромосом развивается либо в раннем эмбриогенезе – вследствие нерасхождения хромосом на первых этапах деления дробления эмбриона, либо ранее — в гаметогенезе: во время митотического деления оогониев или сперматогониев; во время мейотического деления (в метафазе I или метафазе II) женской или мужской гамет.

Нарушение распределения половых хромосом может происходить и при митотическом делении, последствия которого будут зависеть от стадии онтогенеза, а также от механизма определения пола. У дрозофилы были обнаружены мухи с нетипичным сочетанием признаков двух полов – одни части тела женского, а другие мужского типа. Таких мух на-

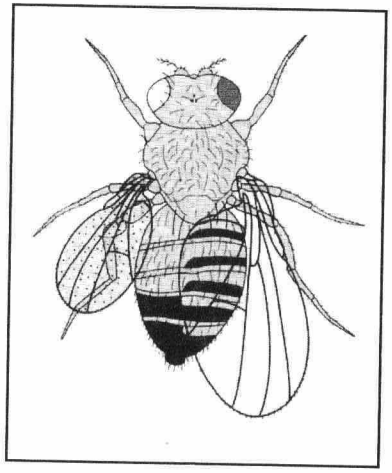


Рис. 7. Билатеральный гинандроморф дрозофилы

зывают гинандроморфами (от греч. *gyne* – женщина, *andros* – мужчина, *morphe* – форма) – рис. 7.

Симметричные или билатеральные гинандроморфы могут появляться у самок как результат потери одной Х-хромосомы при первом делении – дроблении зиготы, что подтверждается при исследовании хромосом из правой и левой частей тела. Потери хромосом могут происходить и на более поздних стадиях развития, тогда появляются особи-мозаики, у которых в разных пропорциях представлены участки тела, состоящие из клеток с неодинаковыми наборами хромосом.

Гинандроморфы часто встречаются у насекомых, иногда у птиц, но никогда у млекопитающих, хотя у них также отмечены случаи нарушения в распределении половых хромосом в митозе. У дрозофилы каждая соматическая клетка полоопределяется самостоятельно. Причина отсутствия проявления гинандроморфизма у млекопитающих и человека кроется в действии гормонов (см. гл. 4).

1.5. Признаки, зависимые от пола и ограниченные полом

Любой организм представляет целостную систему, с постоянно экспрессирующимися и взаимодействующими генами. Половой диморфизм проявляется не только на хромосомном уровне и наличием полдетерминирующих генов, но и различных уровнем половых гормонов, что в значительной степени определяет характер экспрессии других генов. Это гены, контролирующие признаки, *зависимые от пола и ограниченные полом.*

Признаки, *зависимые от пола*, проявляются у обоих полов с разной степенью выраженности. Приведем несколько примеров зависимых от пола признаков. У самок и самцов домашних кур оперенье контролируется двумя аллелями аутосомного гена (*H*), экспрессия которого определяется статусом половых гормонов. У кур, независимо от того, несут они до-

минантные (*HH*) или рецессивные (*hh*) аллели этого гена, перья в районах шеи и хвоста всегда короткие, а у петухов с генотипом (*hh*) – длинные.

Ген раннего облысения проявляется как доминантный у мужчин и как рецессивный – у женщин. Уровень половых гормонов определяет доминирование рогатости у самцов баранов, у самок же доминирует ген комолости.

Ограниченные полом признаки в силу половой дифференциации могут проявиться только у одного из полов, например, продукция молока или яиц свойственна только особям женского пола, хотя полимерные гены, контролирующие эти признаки, локализованы в аутосомах обоих полов.

1.6. Логические типы определения пола: прогамное, сингамное, эпигамное

Одной из первых классификаций разнообразных механизмов определения пола является *логическая система*, в которой критическим фактором является момент оплодотворения, согласно которому можно выделить три типа: *прогамное* – до оплодотворения; *сингамное* – в момент оплодотворения и *эпигамное* – после оплодотворения. Несмотря на формальность данной классификации, она отражает различные механизмы детерминации пола. Следует отметить, что детерминация и дифференцировка пола – два разных, но взаимосвязанных процесса. Детерминация пола является тем фактором, который и определяет путь дифференцировки. Дифференцировка пола как у животных, так и у растений является генетически запрограммированным каскадом последовательных событий по преобразованию недифференцированной (бисексуальной) прогонады, а у растений – флоральной меристемы в дифференцированные мужские или женские репродуктивные органы. В соответствии с этой системой при *сингамном* определении пола фактором детерминации будет генетический компонент. Генетическая детерминация пола (GSD – *genetic sex determination*) – наиболее распространенный способ определения пола у животных и растений и включает серию аллелей одного или нескольких аутосомных генов, половые хромосомы с пол-определяющими генами, в некоторых случаях уровень плоидности.

Прогамное определение пола встречается у небольшого числа животных и определяется размерами яйцеклетки и сперматозоидов. Например, при дифференцировке яйцеклеток на быстро и медленно растущие, пер-

вые становятся крупными, и из них после оплодотворения развиваются самки. Вторые же отличаются меньшими размерами и дают самцов, хотя оба вида яйцеклеток генетически равнозначны, как например, у коловраток (*Rotatoria*), тлей (*P. vastatrix*). У морского червя (*D. apatris*) из крупных яиц с большим желтком развиваются самки, а из мелких – самцы. Раннее определение пола было отмечено и у тутовой щитовки (*P. petitagona*), самка которой откладывает яйца двух цветов, из кораллово-красных развиваются самки, а из розовых – самцы. Оказалось, что после оплодотворения в розовых яйцах набор хромосом от самца разрушается, а развивающийся самец гаплоиден.

Эпигамное полоопределение считается эволюционно-древним типом, пол зародыша устанавливается после оплодотворения и зависит от факторов окружающей среды. Определение пола под влиянием внешних условий называется фенотипическим или модификационным (ESD-*environment sex determination*). Например, у морского кольчатого червя бонеллия (*B. viridis*) личинка, поселяясь на хоботке самки, развивается в самца, а на дне моря – в самку. У растения однопокровницы (*A. japonica*) из крупных клубней, богатых питательными веществами, развиваются растения с женскими цветками, а из мелких клубней – с мужскими.

У некоторых рептилий, не имеющих половых хромосом, процесс дифференцировки пола происходит сходным образом с млекопитающими при участии ортологичных генов и тех же гормонов. Однако фактором детерминации пола является не генетический фактор, а экзогенный, главным образом температурный (TSD). Существует три типа температурозависимого определения пола, в двух из них низкие температуры инкубации приводят к 100%-ному появлению самцов или самок, а в третьем случае самки развиваются как при высоких, так и при низких температурах, а самцы формируются под воздействием промежуточных температур (рис. 8).

Зависимость развития пола от температурного фактора объясняется температурочувствительным метаболизмом стероидных гормонов (эстрогенов) и ферментов, вовлеченных в синтез этих гормонов. Экспериментально показано, что фермент P450-ароматаза превращает тестостерон в эстрадиол. Ароматаза в основном экспрессируется в яичниках и в плаценте и играет важную роль в контроле репродуктивной функции организма. Если у млекопитающих яичники могут развиваться в отсутствии эстрогенов или их рецепторов (см. гл. 3), то у рептилий зародыш может развиваться в женскую

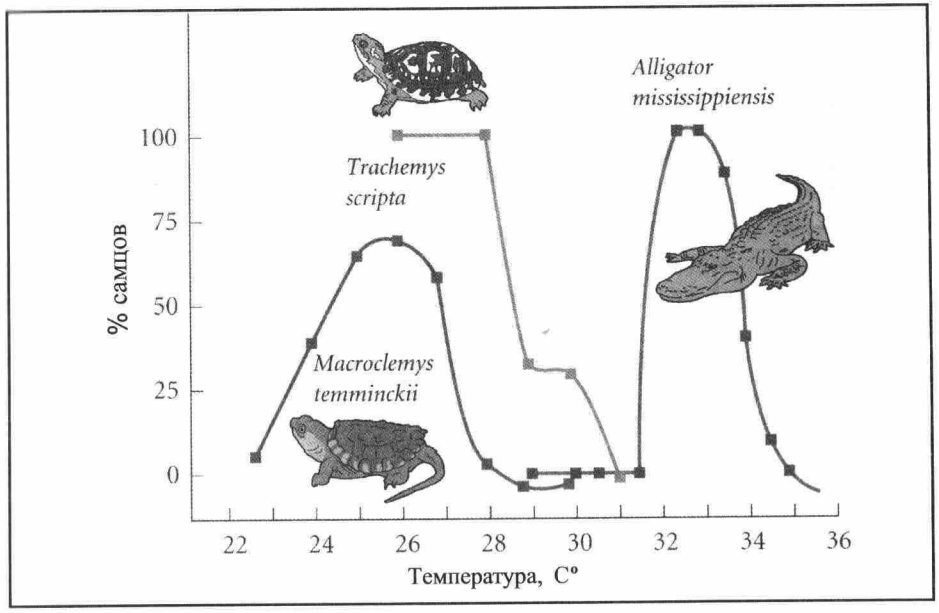


Рис. 8. Температурозависимая детерминация пола у рептилий 3 представителей класса пресмыкающихся: грифовая (Macroclemis) и красноухая (Trachemys) черепахи и аллигатор (Alligator missisippiensis)

особь при обработке эстрогеном, даже при температурном режиме инкубации яиц, которая определяет развитие самцов. Самцы же развиваются, когда синтез эстрогенов блокируется температурой, при которой из зародыша развиваются самки.

Среди рептилий, как например, у ящериц и змей, помимо температурозависимой детерминации пола существуют и хромосомные – с мужской и женской гетерогаметностью (XX-XY, ZZ-ZW).

Широкое распространение полового размножения и проявление полового диморфизма в различных таксономических группах, а также многообразие механизмов полоопределения свидетельствуют о неоднократности и независимости возникновении пола в различных таксономических группах. Половой диморфизм является эволюционным приобретением всех позвоночных, некоторых видов цветковых растений и поддерживается генетическим факторами (GSD) и факторами окружающей среды (ESD).

?

1. В чем заключается разнообразие форм и способов размножения?
2. В чем заключаются основные функции мейоза?
3. На чем основано явление наследования признаков, сцепленных с полом?
4. В чем сходство и отличие оогенеза и сперматогенеза?
5. Из каких клеток может развиваться зародыш при апомиксисе?
6. Как наследуются признаки, сцепленные с полом?
7. К каким последствиям приводит нерасхождение хромосом в мейозе?
8. Суть принципиальных различий при различных логических типах определения пола.

Хромосомные системы определения пола

Глава 2

Системы половых хромосом с гомо-(XX/XY, XX/XO) и гетерогаметным (ZZ/ZW)женским полом. Множественные половые хромосомы. Структурно-функциональная организация половых хромосом, специфические особенности Y(W) хромосом и их дегенерация. Роль района супрессии рекомбинации (NRY) в эволюции половых хромосом. Половые хромосомы человека

2.1. Гомогаметный и гетерогаметный пол

У большинства видов половой диморфизм проявляется на хромосомном уровне и, как правило, связан с уменьшением одной из гомологичных хромосом **– гетероморфные половые хромосомы.** Однако современные методы позволяют выявлять и **гомоморфные половые хромосомы** с детерминантами развития пола. Термин «половые хромосомы» был введен A.Wilson в 1906 г. и отражал их принадлежность видам, у которых произошло обособление хромосом, проявляющееся в гетероморфности.

Разнообразие генетических систем определения пола у животных и растений настолько велико, что требует определенной классификации. Можно выделить два типа половых систем, в зависимости от гомо- или гетерогаметности женского пола. В случае системы XX/XY, характерной для млекопитающих, человека, некоторых насекомых (дрозофила) и двудомных растений, а также система XX/XO (многие насекомые, нематода) – гомогаметным является женский пол. Система ZW/ZZ с гетерогаметным женским полом менее распространена и обнаружена у птиц, некоторых насекомых, рыб и змей. В большинстве случаев Y(W)-хромосома меньше X(Z)- и определяет развитие мужского (женского) пола.

Наибольшее разнообразие систем половых хромосом и детерминации пола среди позвоночных обнаружено у разных видов рыб – от гонохоризма

(физическое разделение полов на мужские и женские особи) до гермафродитизма (обоеполость) и однополых (все особи женского пола). В гонохористических видах пол может определяться генетически – от аллелей одного гена, локализованных в аутосомах, до целых локусов половых хромосом. Морфологически различимые половые хромосомы были идентифицированы только в 10% видов рыб, изученных кариологически (176 из 1700 видов), которые включают как XY- так и ZW-системы, причем систем с мужской гетерогаметностью в 2 раза больше, чем с женской. Внутри каждой системы также существует высокая вариабельность по морфологии хромосом. Кроме того, переходные формы, где внутри одной популяции имеются гомоморфные половые хромосомные комплексы с гетерогаметным мужским и женским полом

$$XX/XX_Y \quad \text{и} \quad ZZ_W/ZZ$$

выявлены у платиновой рыбки (*X. maculatus*). У представителей амазонских менидий (M. menidia) пол определяется на основе взаимодействия генотипа и среды.

Реже встречаются системы с множественными половыми хромосомами, которые обнаружены у некоторых видов растений и однопроходных млекопитающих. Так, двудомные растения щавеля (*R. acetosa*) имеют две Y-хромосомы:

женские растения ($2n = 12 + XX$), мужские – ($2n = 12 + XY_1Y_2$).

У утконоса, представителя *Monotremata*, 10 половых хромосом

$$X_1X_2X_3X_4X_5Y_1Y_2Y_3Y_4Y_5,$$

которые имеют концевые гомологичные участки, и поэтому в мейозе образуют цепочку

$$X_1–Y_1–X_2–Y_2–X_3–Y_3–X_4–Y_4–X_5–Y_5,$$

а у австралийской ехидны 5X и 4Y-хромосомы с мейотической цепочкой из 9 хромосом.

Обособление половых хромосом, несомненно, является проявлением тех эволюционных процессов, которые были в первую очередь связаны с генами – детерминантами пола, которые как у животных, так и у растений представляют достаточно широкий спектр, от серии аллелей одного гена до полигенных локусов специфически обособленных половых хромосом.

Половые хромосомы животных и растений проявляют удивительное сходство эволюционных процессов, которые являются результатом действия сходных селективных факторов, а многообразие различных систем

детерминации пола у животных и растений, несомненно, свидетельствует о неоднократности и независимости возникновения пола. Сравнение структурно-функциональной организации гомо- и гетероморфных половых хромосом позволяет раскрыть возможные механизмы их эволюционирования.

2.2. Структурно-функциональная организация половых хромосом

Гомоморфные половые хромосомы. Морфологически одинаковые (гомоморфные) половые хромосомы обнаружены во многих таксонах, как у двудомных растений бешеного огурца (*E. elaterium*), папайи (*C. papaya*), тополя (*P. salba*), а также у некоторых видов рыб: медака (*O. latipes*), колюшка (*G. aculeatus*) и платиновой рыбки (*X. maculatus*). Например, у трехдомного вида *C. papaya* с мужскими, женскими и гермафродитными растениями пол определяется сочетанием трех аллелей пол-специфического локуса (MSY – *mail specific Y*):

$$M > Mh > m,$$

(Mm – мужские растения, Mhm – гермафродитные, mm –женские, MM, MMh и MhMh – эмбриональные летали). Первичное соотношение полов в этом случае подчиняется менделевским закономерностям. Гомологичные хромосомы с такими аллелями морфологически не различимы, поэтому обозначение таких хромосом как XX_Y будет отражать их гомоморфность. Однако на молекулярном уровне почти все гомоморфные половые хромосомы проявляют гетерогенность, которая обусловлена наличием района супрессии рекомбинации (NRY – nonrecombining region, или MSY – male specific Y). Его присутствие было показано при молекулярно-генетическом анализе гомоморфных половых хромосом рыбки медаки, с локализованным в этом локусе пол-детерминирующим геном *DMRT1bY*, у папайи (*C. papya*) и в W-хромосоме тополя. Исследования половых хромосом современными методами, такими как сравнение нуклеотидных последовательностей генов X- и Y-хромосом и хромосомный пэйнтинг показывают, что морфологически одинаковые гомоморфные половые хромосомы на молекулярном уровне являются гетерогенными.

Гетероморфные половые хромосомы. Гетероморфные половые хромосомы, несмотря на различные размеры и морфологию, представляют гомологичную пару, сегрегирующую в мейозе благодаря псевдоаутосомным районам (PAR-pseudoautosomal region). В уже ставших классическими по-

Для исследования Y-хромосомы человека сообществом генетиков в 2002 г. был создан консорциум (YCC – Chromosome Consortium Y) . По его программе составлена карта глобального распространения 18 основных гаплотипов MSY-района Y-хромосомы человека. Этногеографическое распространение и филогения гаплогрупп Y-хромосомы дают более точное представление о происхождении человека и его расселении.

2.3. Происхождение и эволюция половых хромосом

Исследования половых хромосом млекопитающих, проведенные Э.А.Гилевой (1981), внесли значительный вклад в понимание эволюционных процессов при их формировании. Было показано, что все три инфракласса Mammalia (Monotremata, Metatheria, Euteria) имеют структурно-дифференцированные половые хромосомы с небольшой Y-хромосомой, которая гетерохроматизирована. Существенным признаком гетерохроматина является его генетическая инертность, а различия в размерах хромосом несомненно свидетельствует о частичной утрате гомологии и дегенерации Y-хромосом.

Ключевым событием в эволюции половых хромосом является их генетическая дифференциация, причиной которой является появление структурных различий между изначально изоморфными гомологами. В различных таксономических группах растений, беспозвоночных и хордовых животных дифференциация половых хромосом происходила независимо, но привела к одинаковым результатам – уменьшению размеров Y(W)-хромосом, при консервативности X(Z)-хромосом. X-хромосомы млекопитающих высоко консервативны, так же как и Z-хромосомы птиц, однако гены X- и Z-хромосом не имеют гомологии. Степень эволюционного консерватизма X-хромосомы, как носителя генетической информации, была оценена при сравнении X-сцепленных генов у разных видов млекопитающих. Ранее это было продемонстрировано Э.А.Гилевой цитогенетическими методами по стабильности рисунка при G-окрашивании. Консервативность Z-хромосом птиц и рептилий также была показана методом FISH и при сравнительном картировании. С очевидностью следует, что ZW-система птиц и XY- млекопитающих произошли независимо из двух различных аутосомных районов общего предка, который, вероятно, имел тип определения пола, зависимый от температуры.

Сравнительное картирование генов высших, однопроходных и сумчатых млекопитающих позволяет понять происхождение половых хромосом

человека. Установлено, что X-хромосома человека имеет большой район гомологии с маленькой X-хромосомой сумчатых. Все гены длинного плеча X-хромосомы и прицентромерный районы также найдены у сумчатых, что свидетельствует о соответствии данного района предковой X-хромосоме, возраст которой составляет не менее 130 млн лет. Такой же набор генов был картирован в X-хромосоме однопроходных, а район назван консервативным – *XCR* (*X conserved region*) и соответствующим предковой X-хромосоме.

Гены короткого плеча X-хромосомы человека обнаружены в аутосомах сумчатых, которые были выявлены хромосомным пэйнтингом. Сравнение четырех генов Y-хромосомы человека (*SRY, RPS4Y, SMCY* и *RBMY*) и сумчатых показал их синтению и колинеарность, что является характеристикой общего консервативного района Y-хромосомы (*YCR – Y conserved region*) – рис. 12.

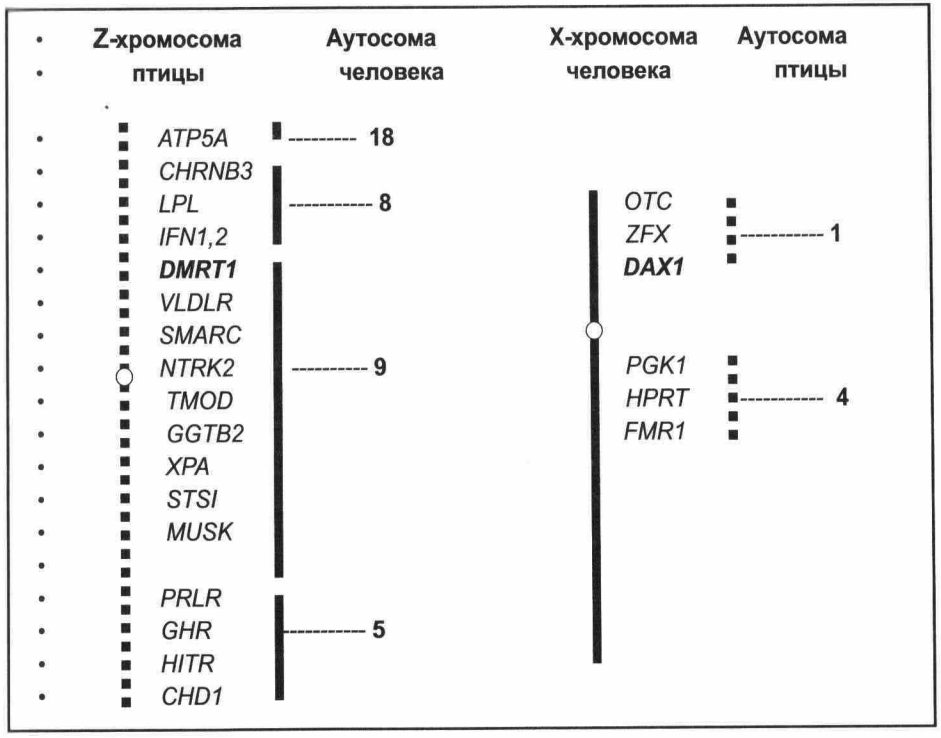


Рис. 12. Сравнительное положение генов, картированных в Z-хромосоме птиц и хромосом 5, 9, 8, 18 человека; X-хромосоме человека и хромосом 1, 4 птиц [Graves, Shetty, 2001]. Ген *DMRT1*-локализация в хромосоме 9p24.3 человека (функция связана с развитием семенников) (по Graves, 2008)

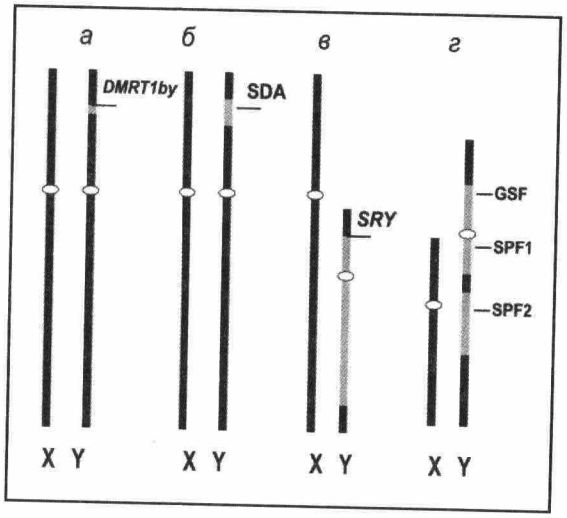


Рис. 9. Схематичное изображение гомоморфных половых хромосом: *а* – медака; *б* – папайя; гетероморфные: *в* – человек; *г* – смолевка. Серым цветом показан район супрессии рекомбинации (NRY)

ловых хромосомах человека и млекопитающих локусы PAR1 и PAR2 расположены в дистальных участках X- и Y-хромосом, в которых находятся гомологичные гены и осуществляется кроссинговер, из чего следует, что гены PAR наследуются также, как и аутосомные гены. Сравнительный анализ гомоморфных хромосом, идентифицированных у папайи, тополя и рыбы медаки, а также гетероморфных хромосом человека и дремы луговой показал доминирующую роль Y(W)-хромосом в определении пола, которая объясняется локализацией в районе супрессии рекомбинации (NRY) сигнальных генов детерминации пола (SDA). У человека и млекопитающих это ключевой ген *SRY*, который локализован на границе псевдоаутосомного и района супрессии рекомбинации (Yp11.31) – рис. 9.

Большая Y-хромосома дремы луговой (*S. latifolia*) также имеет псевдоаутосомные районы и обширный район запрета рекомбинации (NRY) с локусами: супрессии развития гинеция (GSF – gynoecium-suppressing function), развития андроцея (SPF1 – stamen promoting function), фертильности пыльцы (SPF2 – stamen promoting function). Однако ключевой ген, определяющий развитие мужских цветков, пока не установлен. Гены детерминации пола в настоящее время выявлены только у млекопитающих и некоторых видов рыб. Для многих видов, имеющих половые хромосомы, определены только гены-кандидаты детерминации пола, и их функцию продолжают исследовать (табл. 3).

Сравнение структуры гомо- и гетероморфных хромосом показывает, что различия между ними в основном связаны с размером NRY и степенью дегенерации Y-хромосомы (см. рис. 9 и табл. 3).

Таблица 3

Структура половых хромосом животных и растений

Вид	Половые хромосомы и ключевые гены	Источник
Гомоморфные		
Ecballium elaterium (бешеный огурец)	XX / X X_Y SDA – $a^D > a^+ > a^d$	Gomez-Campo, 1965
Carica papaya (папайя)	XX / X X_Y; MSY SDA – M > Mh > m;	Liu et al., 2004
Populus (тополь)	Z Z_W / ZZ, FSW	Yin et al., 2008
Gallus gallus (куры)	ZW/ZZ, W – гетерохроматизирована	Smith, Sinclair, 2004
Medaka (рыбка медака)	XX/X X_Y ; MSY; *DMRTbY*	Neruse et al., 2000
Sticlebacks (колюшка)	XX/X X_Y MSY	Peichel et al., 2004
Гетероморфные		
Ellobius lutescens (слепушонка горная)	XX/XO; отсутствие *SRY*	Баклушинская, 2009
Silene latiolia (смолевка)	XX/XY; MSY; SDA; PAR; эухроматиновая	Vyskot,1993; Zluvova, 2005
Drosophila melanjgaster (плодовая мушка)	XX/XY Yхр.не имеет SDA, полная супрессия рекомбинации у самцов; гетерохроматизирована	Bachtrog, 2002
Homo sapience (человек) (млекопитающие)	XX/XY ; MSY; *SRY* MSY; PAR1, PAR2 ; гетерохроматизирована	Skaletsky et al., 2003
Гетероморфные, множественные		
Rumex acetosa (щавель)	Гетероморфные – XY1Y2; MSY; PAR; Y-хромосомы гетерохроматизированы	Lengerova, Vyskot, 2001
Ornithorhynchus anatinus (утконос)	X_1 X_2 X_3 X_4 X_5 / Y_1 Y_2 Y_3 Y_4 Y_5	Rens, 2007

Примечание. PAR – pseudoautosomal region; SDA – sex-determining alleles; NRY – nonrecombining region

Закономерно возникает вопрос о том, какие особенности структурно-функциональной организации половых хромосом могут отражать их дивергенцию и соответственно эволюционный возраст?

Район супрессии рекомбинации (NRY) Y(W)-хромосом. Происхождение половых хромосом из пары аутосом за счет приобретения пол-детерминирующих аллелей и супрессии рекомбинации является общим сценарием как для животных, так и для растений. Первый шаг в этом процессе связан с появлением у так называемых прото-Y(W)-хромосом дуплицированного прото-гена. Дупликации, как правило, являются результатом перемещения транспозона с образованием псевдогена или гена с измененной функцией. В результате формируется специфический локус: если он несет ген с пол-детерминирующей функцией, то возникшая гетерозиготность ведет к развитию одного пола, а гомозиготность – другого. На этой стадии эволюционного процесса обе хромосомы морфологически гомоморфны, однако, на молекулярном уровне они уже становятся гетероморфными. У человека и млекопитающих это был ген *SOX3* [D.Wilhelm et al., 2007].

После приобретения одной из хромосом пол-детерминирующего гена в пограничных с ним районах начинается формирование локуса запрета рекомбинации NRY (*non-recombination Y*) или MSY (*male specific Y*). Значительно чаще в научной литературе употребляется термин MSY, так как он отражает факт присутствия в этом локусе генов, обеспечивающих нормальный процесс сперматогенеза и жизнеспособность сперматозоидов (спермиев).

Район MSY выявлен в гомо- и в гетероморфных половых хромосом всех исследованных видов растений и животных. Его наличие было доказано при молекулярно-генетическом анализе гомоморфных половых хромосом папайи (*C. papya*). Анализ последовательностей 4-х парных генов X-хромосомы и локуса MSY X_Y-хромосомы из BAC-клонов показал, что цитологически гомоморфные хромосомы на молекулярном уровне являются гетероморфными. Варианты X_Y генов были больше и включали много повторяющихся последовательностей. Доказательства супрессии рекомбинации этого района были получены при анализе наследования более сотни молекулярных маркеров в популяциях F_2 и F_3 от женских и гермафродитных растений: среди 4 тыс. растений не было выявлено ни одного рекомбинанта. Супрессия рекомбинации MSY папайи является результатом накопления повторяющихся последовательностей, инверсий и наличием ретротранспозонов. Сравнение нуклеотидных последовательностей генов MSY папайи X- и Y-хромосом показало время их дивергенции, которая произошла примерно 0,5–2,0 млн лет

назад. Такая оценка проводится на основании принципа молекулярных часов, согласно которому скорость замены оснований происходит следующим образом: в среднем одна замена за 20 тыс. лет.

В гомоморфных половых хромосомах рыбки медаки (*O. latipes*) также был обнаружен небольшой локус MSY (258 т.п.н.), который расположен в дистальной части длинного плеча Y-хромосомы и включает ген *DMRT1bY* с функцией детерминации развития семенников. Происхождение MSY медаки связывают с инсерцией на Y-хромосому дуплицированного фрагмента от хромосомы 9 (LG9), содержащего ген DMRT1a. По границам MSY находятся дуплицированные гены (псевдогены) *OlaflnkL* и *OlaflnkR*, которые также вносят вклад в запрет рекомбинации. Недавно изучены гомоморфные половые хромосомы (ZW) тополя, где в теломерном районе хромосомы 19 также был выявлен небольшой район, всего 706 т.п.н. (FSW – female-specific region of the W chromosome) с полной супрессией рекомбинации.

В настоящее время можно с уверенностью утверждать, что половые хромосомы животных и растений эволюционировали через механизм супрессии рекомбинации вокруг пол-детерминирующих генов. Супрессия рекомбинации поддерживается перманентной гетерозиготностью этого района, причинами которой являются инверсии, накопление мутаций, повторяющихся последовательностей и ретротранспозонов. Отсутствие рекомбинации ведет к накоплению повреждающих мутаций, расширению границ локуса NRY и эрозии Y-хромосомы. Супрессия рекомбинации является уникальной и специфической характеристикой половых хромосом. Высказано предположение, что инверсии в половых хромосомах являются следствием запрета рекомбинации, но не причиной. Не исключена и вероятность существования генов-супрессоров рекомбинации, локализованных на Y-хромосоме. Это предположение подкрепляется фактом нарушения (конъюгации) спаривания X-Y-хромосом в мейозе у мутантов *S. latifolia* с делециями, не затрагивающих псевдоаутосомный район.

Половые хромосомы человека. Половые хромосомы человека являются полностью сиквенированной парой и изучены наиболее полно, что объясняется важностью не только фундаментальных исследований, но и медицинскими аспектами. Это дает возможность достаточно точно представить их структурно-функциональную организацию. Маленькая Y-хромосома (58 млн п.н.) составляет примерно 1/3 от X-хромосомы и представлена гетерохроматиновыми и эухроматиновыми участками. Несмотря на эти различия X- и Y-хромосомы остаются гомологичными за счет двух псевдоаутосомных

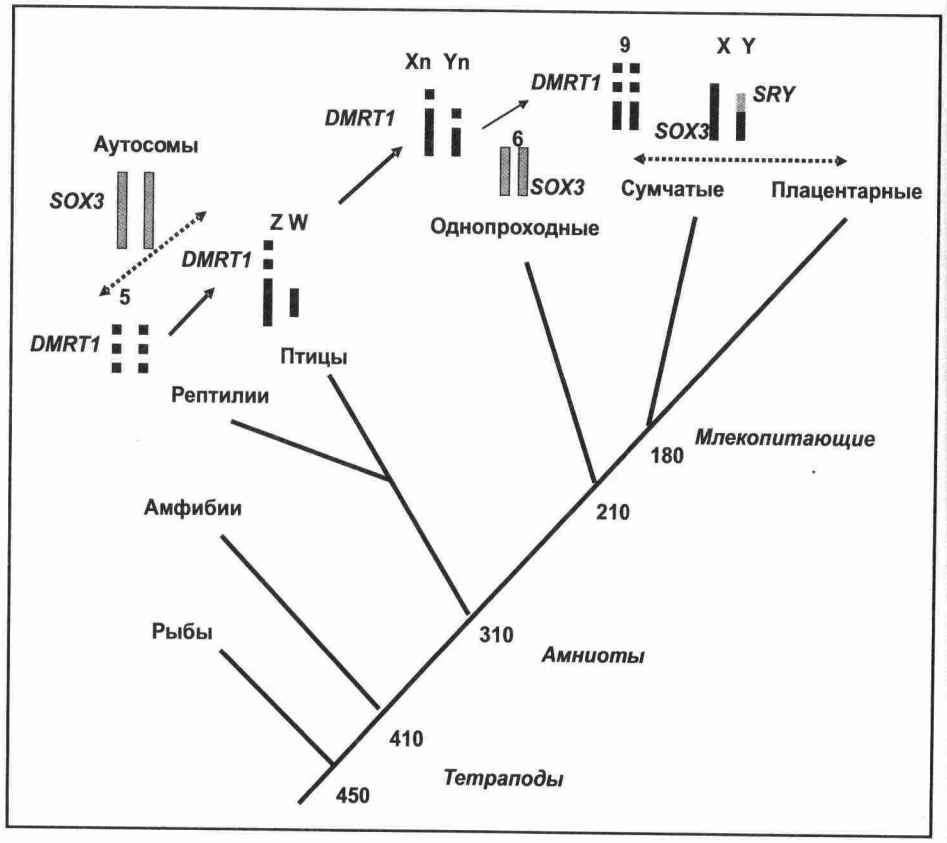


Рис. 13. Время дивергенции (млн лет) классов позвоночных и субклассов млекопитающих. Функция сигнального пол-детерминирующего гена, сцепленного с половыми хромосомами у рептилий и птиц, принадлежит гену DMRT1; аутосомный ген *SOX3* – транскрипционный фактор с ДНК-связывающим доменом; SOX3 является протогеном в происхождении гена *SRY* [Graves, 2008]

Этот факт позволяет предположить, что современные X- и Y-хромосомы человека эволюционировали при сохранении предковых XCR- и YCR-районов и добавления районов аутосом. Большие районы гомологии обнаружены между аутосомами 5, 9, 8 и 18 человека и Z-хромосомой птиц и рептилий, с одной стороны, и X-хромосомой человека и 1, 4 аутосомами птиц – с другой. Многие исследователи сходятся во мнении о том, что половые хромосомы млекопитающих и птиц происходят от разных предковых пар аутосом (рис. 13).

У птиц и рыбок медаки тестис-детерминирующую функцию (TDF) выполняет ген *DMRT1* и *DMRT1bY* соответственно, а у млекопитающих и человека – ген *SRY*. Как было показано выше, происхождение гена *SRY* связывают с гомологичным геном *SOX3*, локализованным в X-хромосоме всех млекопитающих и в аутосомах птиц и рептилий (см. рис. 13). Эти ключевые сигнальные гены являются транскрипционными факторами, функция которых заключается в запуске каскада в последовательной цепи событий при формировании мужских репродуктивных органов.

Сравнительный анализ всех типов половых хромосом позволяет выделить их основные признаки: гетероморфность, проявляющаяся морфологически и на молекулярном уровне; гетерохроматизация Y(W)-хромосом, приводящая к генетической инертности; наличие псевдоаутосомных районов (PAR) и района запрета рекомбинации (NRY) с пол-детерминирующими аллелями (SDA); компенсация дозы генов X-хромосом.

Сходство результатов эволюционных преобразований половых хромосом связано с универсальностью структурно-функциональной организации генетического материала у эукариот и механизмами, действующими на молекулярном уровне. Последовательность эволюционных событий по обособлению Y(W)-хромосом включает следующие этапы: пара аутосом → появление SDA → накопление мутаций и ретроэлементов → появление NRY → расширение границ NRY → дегенерация Y-хромосомы.

Универсальность структурной и функциональной организации половых хромосом как животных, так и растений проявляется в специфической локализации пол-детерминирующих генов – это пограничный район PAR и локус NRY. Очевидно, можно считать, что поиск ключевых генов детерминантов пола среди генов-кандидатов следует проводить именно в этом районе Y(W)-хромосом

Сравнительный анализ последовательностей генов X- и Y-хромосом у близкородственных видов позволяет определить время их дивергенции. Такая оценка делается с большим приближением на основе принципа молекулярных часов, согласно которому одна нуклеотидная замена происходит в среднем через 20 тыс. лет. Метод молекулярных часов можно использовать для систем, где «часы идут равномерно», в этом отношении половые хромосомы одного таксона позволяют проводить такую оценку. Эволюционный возраст половых хромосом позвоночных, рассчитанный таким методом, насчитывает, по оценкам разных исследователей, 320–500 млн лет, а у растений и некоторых видов рыб – 10–20 млн лет. Поэтому относительно молодые

районов – PAR1 (26 млн п.н.) и PAR2 (0,4 млн п.н.), в которых картировано 29 генов, рекомбинирующих с генами Х-хромосомы. Большинство из этих генов являются генами "домашнего хозяйства" и избегают инактивации. В их числе следует отметить ген *SHOX* (*short stature homeobox*) и его цитогенетическую локализацию – (Xp22.32 и Yp11.3). Белковый продукт этого гена необходим для нормального развития скелета. У пациентов с одной Х-хромосомой и, следовательно, с одной копией этого гена, проявляется синдром Шерешевского-Тернера.

Следует отметить и тот факт, что большая часть генов Y-хромосомы имеет Х-хромосомные аналоги. Это касается и генов, непосредственно вовлекаемых в определение пола: *ZFX/ZFY, SOX3/SRY, UBE1X /UBE1Y, SMCX/SMCY*. Геномные версии этих генов, как правило, различаются по сайтам рестрикции и по длине последовательностей. Именно это обстоятельство делает этот и другие, аналогичные ему локусы, пригодными для определения половой принадлежности различных биологических проб. Такие задачи обычно ставятся перед молекулярно-генетической экспертизой, решение которых становится возможным при амплификации фрагментов генов из этих локусов с общими праймерами в одной пробирке. Например, после рестрикции амплифицированных продуктов генов *ZFX/ZFY* в 2%-ном агарозном геле должны выявляться разные наборы пол-специфичных фрагментов: три специфические полосы для женского и две – для мужского пола (рис. 10).

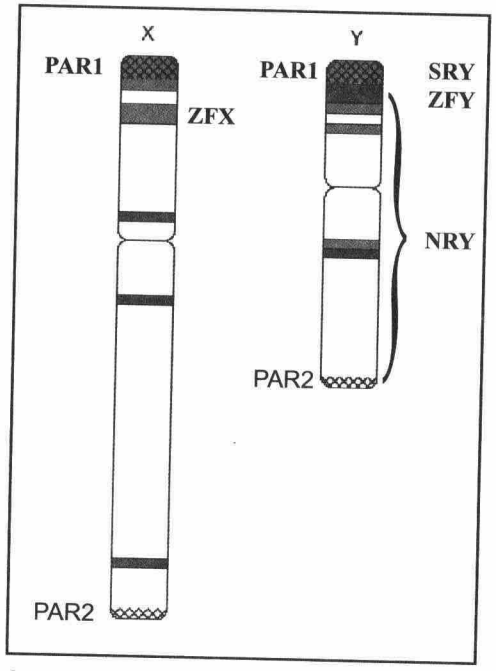


Рис. 10. Структура половых хромосом человека. PAR1, PAR2 – псевдоаутосомные районы; NRY (MSY) – район супрессии рекомбинации на Y-хромосоме; ZFX/ZFY – гомологичные гены; SRY – тестис-детерминирующий ген

Особый интерес представляет район MSY (NRY), составляющий почти 95% от Y-хромосомы (рис. 11).

Данный район мозаичен, состоит из гетерохроматиновых и эухроматиновых участков, а также включает большое число повто-

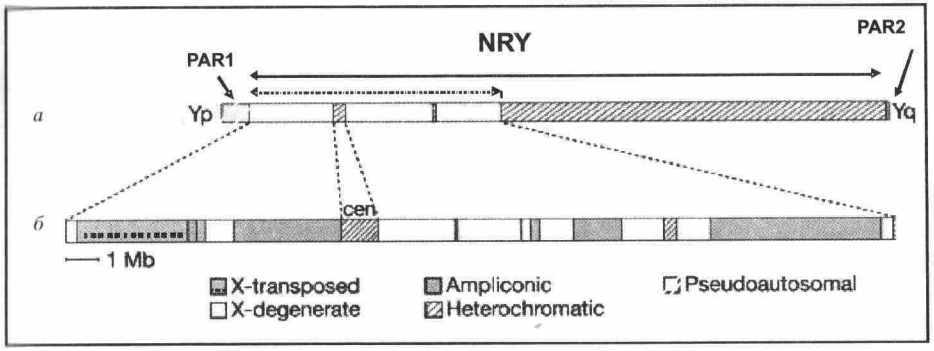


Рис. 11. Структура Y-хромосомы человека с эухроматиновыми и гетерохроматиновыми районами и двумя псевдоаутосомными районами PAR1, 2 – а; детализация участка NRY (24 млн п.о.), показаны 3 класса эухроматиновых последовательностей (X-transposed, X-degenerate, ampliconic) – б

Источник: [Skaletsky et al., 2003] http://www.nature.com/nature/journal/v423/n6942/full/nature01722.html – a1#a1

ряющихся последовательностей. Все гены этого района представлены тремя классами:

- белок-кодирущие гены, включая два Х-гомологичных гена *TGIF2LY* и *PCDH11Y*;
- Х-дегенерированные – это единичная копия гена *SRY* и 16 псевдогенов;
- ампликоны, маркированные 8 палиндромами.

Совсем недавно, в 2003 г. S.Rozen at al., показали, что в эухроматиновых районах между амплифицированными последовательностями генов, экспрессирующихся исключительно в семенниках, происходит множественная генная конверсия. В отсутствии второй гомологичной хромосомы генная конверсия в Y-хромосоме происходит между палиндромными последовательностями дуплицированных генов, что позволяет редактировать возникающие мутации в генах, контролирующих мужскую фертильность. В такой структуре MSY заложены главные функции этого уникального района хромосомы: с одной стороны это супрессия рекомбинации, приводящая к генетической дегенерации Y-хромосомы и накоплению мутаций, а с другой – сохранение гаплотипов консервативных генов, контролирующих сперматогенез и жизнеспособность гамет (*гаплотип – это наследование определенных аллелей ряда генов, локализованных в определенных местах Y-хромосомы*).

	Самки		Самцы
1	Гипертранскрипция (дрозофила)		
	XX		X
	1 + 1	=	2
2	X- инактивация (млекопитающие)		
	X [X]		X Y
	1	=	1
3	Гипотранскрипция (нематода)		
	XX		X
	1/2	=	1/2

Рис. 14. Три способа реализации механизма дозовой компенсации Х-хромосом

половые хромосомы растений и рыб привлекают исследователей как модели по изучению механизмов ранних этапов их эволюции.

У многих видов с гетероморфными половыми хромосомами в процессе эволюции Y-хромосома утратила много генов. Этот процесс дегенерации Y-хромосомы отразился в геномной структуре локуса NRY, который имеет низкую генную плотность и содержит большое число повторяющихся последовательностей. Механизм дегенерации Y-хромосом до конца не выяснен, однако, известно, что он сопровождается накоплением мобильных элементов, среди которых преобладают ретротранспозоны и неавтономные MITEs (miniature inverted-repeat transposable elements ~100–500 п.н). У растений *S. latifolia* высокая частота MITEs обнаружена в интронах и нетранслируемых районах Y-хромосомы. Наличие ретроэлементов является основной причиной возникновения перестроек хромосом. Совокупность всех этих факторов приводит к супрессии рекомбинации этого района и последующей дегенерации Y-хромосомы.

Эволюция половых хромосом сопровождалась коэволюцией механизмов, уравнивающих дозу Х-сцепленных генов между мужским (XY) и женским (XX) полом. Во всех случаях, известных на сегодняшний день, дозовая компенсация осуществляется через контроль структуры хроматина (рис. 14).

У самцов дрозофилы особые MSL-белки (Male sex lethal) специфически присоединяются к единственной гипертранскрибируемой Х-хромосоме, изменяя структуру хроматина. У самок нематод дозовая компенсация осуществляется путем ассоциации белка DPY27 с Х-хромосомой, что приводит к конденсации данного участка и уменьшению его транскрипции. У млекопитающих и человека это достигается на основе глобальной инактивации одной из Х-хромосом за счет метилирования цитозиновых оснований с последующим выключением транскрипции большинства генов Х-хромосомы.

Следует указать также на некоторое сходство между феноменом геномного импринтинга и инактивацией Х-хромосомы. Если геномный импринтинг является способом регуляции работы отдельных аутосомных генов, то инактивация Х-хромосомы является способом регуляции активности большинства генов целой половой Х-хромосомы женского генома. Импринтированные гены, однако, также часто располагаются на аутосомах в виде кластеров. В основе геномного импринтинга и инактивации Х-хромосомы лежат сходные эпигенетические механизмы регуляции генной активности. В аутосомах имеется центр импринтинга, а в Х-хромосоме – центр инактивации, которые инициируют выключение транскрипции через продукцию нетранслируемой РНК, а последующее метилирование ДНК закрепляет это состояние. Таким образом, в ходе эволюции эпигенетических механизмов регуляции генной активности природа отбирала и закрепляла некие общие глобальные стратегии и механизмы регуляции работы генома.

1. По каким критериям хромосомы можно отнести к половым хромосомам?
2. Чем отличаются гомоморфные половые хромосомы от гетероморфных?
3. Укажите структурно-функциональные особенности гетероморфных половых хромосом.
4. Какую функцию выполняют псевдоаутосомные районы половых хромосом?
5. Какие гены находятся в MSY-районе Y-хромосомы человека и какова их функция?
6. Какие факты доказывают происхождение половых хромосом из аутосом?
7. В чем заключается синтения и колинеарность генов Y-хромосомы человека и аутосом сумчатых?
8. Укажите последовательность эволюционных событий по обособлению Y(W)-хромосом.
9. Какие существуют механизмы дозовой компенсации генов Х-хромосом?
10. Какие гены Х-хромосомы человека избегают инактивации?

Глава 3 Генетический контроль детерминации и дифференцировки пола у животных

Хромосомные системы с гетерогаметным мужским полом – (XY) дрозофила и человек, (XO) нематода. Механизмы детерминации пола: балансовый, соотношение числа X-хромосом к числу наборов аутосом и с различными молекулярно-генетическими механизмами половой дифференцировки; активная Y-хромосома и гормональная регуляция половой дифференцировки. Механизмы компенсации дозы генов.

3.1. Генетика определения пола у дрозофилы (*Drosophila melanogaster*)

Плодовая мушка *D. melanogaster* была введена в качестве модельного объекта в генетические эксперименты Т.Морганом в 1909 г. Ее последующую роль в раскрытии основополагающих закономерностей наследования трудно переоценить. В 1921 г. один из основоположников современной генетики – К.Бриджес обнаружил несколько самок дрозофилы, имевших триплоидный набор хромосом (3X + 3A). В результате скрещивания этих самок, имевших белые глаза с нормальными красноглазыми самцами (2A + XY), во втором поколении было обнаружено восемь фенотипических классов. Причем, среди нормальных самок и самцов были обнаружены особи с промежуточным или необычным проявлением половых признаков (табл. 4).

Это позволило ему сформулировать балансовую теорию определения пола, согласно которой пол определяется соотношением числа X-хромосом к числу наборов аутосом (система X/A). Если это соотношение (половой

Таблица 4

Проявление признаков пола в F1 от скрещивания триплоидной самки с диплоидным самцом *D. melanjgaster*

P ♀ 3X +3A x ♂ XY + 2A		
Гаметы самки	*Гаметы самца*	
	X + A	Y + A
X +A	XX + 2A ♀	XY + 2A ♂
X + 2A	XX +3A *интерсекс*	XY + 3A ♂
2X +A	XXX + 2A *сверхсамка*	XXY + 2A ♀
2X + 2A	XXX + 3A ♀	XXY + 3A *интерсекс*

индекс) было 0,5 – развивались самцы; 1,0 – самки; 1,5 – сверхсамки; 0,33 – суперсамцы, но стерильные; 0,67 – интерсексы.

Дальнейший анализ показал, что Y-хромосома у дрозофилы не играет роли в определении пола, но необходима для поддержания жизнеспособности и подвижности сперматозоидов. Варианты потомства от скрещивания триплоидных самок дрозофилы с диплоидными самцами, имеющих разные соотношения X-хромосом и аутосом, послужили основой для выдвижения гипотезы о балансовом механизме определения пола (см. табл. 4).

3.1.1. Молекулярно-генетические механизмы дифференцировки пола у дрозофилы

Половые различия у дрозофилы определяются дифференциальной активностью генов X-хромосом и аутосом. В настоящее время достигнуты определенные успехи в расшифровке функции ключевых генов, определяющих соотношение X-хромосом и аутосом, а также генов, необходимых для формирования семенников или яичников из бипотенциальной структуры, представленной 8-м, 9-м и 10-м сегментами личинки дрозофилы. В каскадной регуляции генетических событий продукт одного гена является стимулятором активности последующих генов. Цепь таких взаимодействий приводит к формированию репродуктивных органов мужского или женского пола.

Молекулярный механизм проявления соотношения X/A был расшифрован и заключается в образовании белкового комплекса, который формируется из продуктов, кодируемых генами X-хромосом и аутосом.

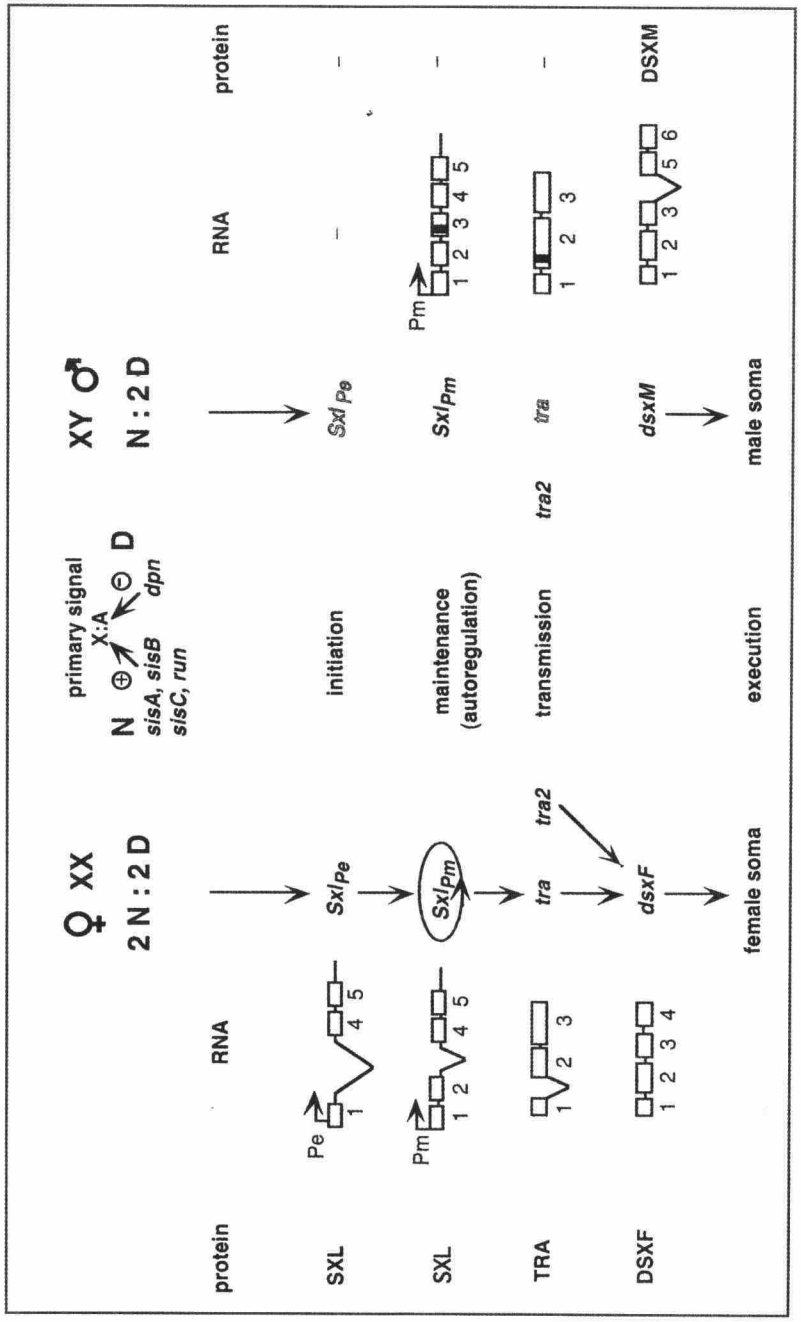


Рис. 15. Каскадная регуляция альтернативного сплайсинга генов, определяющих развитие пола у дрозофилы [A.Pomiankowski at al., 2004]

С X-хромосомой сцеплено несколько так называемых генов-нумераторов *Sis-a, Sis-b, Sis-c, Runt, Dpn,* кодирующих белки-нумераторы, аутосомные гены кодируют белки-денумераторы – *Da, Her, Emc, Gro.* Все эти белки являются транскрипционными факторами типа «basic helix-loop-helix», которые могут изменять архитектуру ДНК и тем самым регулировать транскрипцию других генов, но в узких временных рамках – всего 2–3 ч после оплодотворения. Количество белков-нумераторов у самок (XX+2A) в 2 раза больше, чем у самцов (XY+2A), в то время как количество продуктов денумераторов одинаково. Эти белки димеризуются с образованием гомо- и гетеродимеров. Гомодимеры «denominator-denominator» и гетеродимеры «numerator-denominator» нефункциональны. Только гомодимеры «numerator-numerator» являются функционально-активными и могут связываться с ранним промотором (PE-early promoter) гена *SXL,* активируя его транскрипцию. Этот момент является определяющим в запуске варианта альтернативного сплайсинга.

Транскрипт Sxl, образованный с раннего промотора (PE), связывается с поздним промотором (PL-late promoter) гена *Sxl.* Образующийся продукт Sxl-L является РНК-связывающим белком и включает альтернативный сплайсинг следующего гена в этой каскадной цепи *TRA-2* с образованием функционального женского белка, который в свою очередь определяют альтернативный сплайсинг гена *DSX* (*Doublesex*) с образованием продукта Dsx-Female (X/A = 1), в случае (X/A = 0,5) образуется Dsx-Male. Белки Dsx-F и Dsx-M также являются транскрипционными факторами с функцией репрессора/активатора соответственно (рис. 15).

Ген *DSX* является геном-переключателем развития бипотенциальных первичных половых клеток генитального диска, состоящего из сегментов A8, A9 и A10 дрозофилы по женскому или мужскому пути формирования пола. Это реализуется при взаимодействии Dsx-F или Dsx-M с генами *WG* (*Wingless*) и *DPP* (*Decapentaplegic*), функция которых связана с передачей сигнала при межклеточных взаимодействиях и разметке сегментов.

Ген *DSX-F* специфически ингибирует экспрессию гена *DPP* в мужском сегменте A9 и активирует экспрессию *WG* в женском сегменте A8. В результате из клеток сегмента A8 формируются яичники, а из A9 – семяприемник. Белок DSX-M выполняет противоположную функцию – ингибирует экспрессию *WG* и активирует *DPP* в мужском сегменте A9. В этом случае из бисексуальных клеток сегмента A9 развиваются семенники, а из

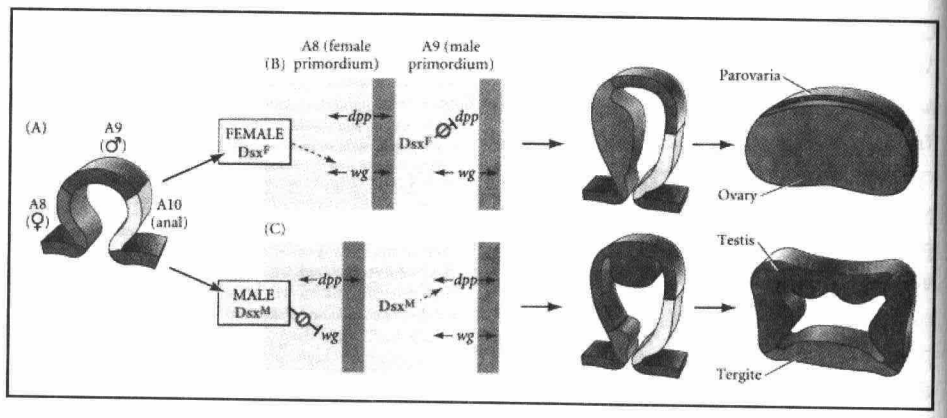


Рис. 16. Модель формирования яичников и семенников из генитального диска дрозофилы (по Keisman, Baker, 2001)

А8 – тергиты, из клеток сегмента А10 развивается анальная часть (рис. 16). Таким образом, каскадная экспрессия генов, определяющих детерминацию пола у дрозофилы, обеспечивается альтернативным сплайсингом РНК-транскриптов. Функция гена *DSX*, как переключателя путей развития мужских и женских гонад проявляется в специфической регуляции клеточных делений в 8-м и 9-м сегментах изначально бипотенциальных гонад дрозофилы.

Бипотенциальная природа генитального диска дрозофилы является основой для специфического проявления плейотропных мутаций генов *sxlF*, *sxlM*, *tra*, *dsx*. При взаимодействии их белковых продуктов происходит переопределение пола и изменяется физиологический статус, который проявляется в стерильности, интерсексуальности и летальности мутантных особей (табл. 5).

Таблица 5

Проявление пола дрозофилы в зависимости от мутаций ключевых генов

Мутация	XY	XX
sxlF	Самцы	Леталь
sxlM	Леталь	Самки
tra	Самцы	Стерильный самец
dsx	Интерсекс	Интерсекс

Дозовая компенсация активности генов Х-хромосом дрозофилы. Эволюция половых хромосом, результатом которой является дегенерация Y-хромосомы, всегда сопровождается коэволюцией механизма компенсации дозы генов Х-хромосомы. Основные открытия в области до-

зовой компенсации у дрозофилы были сделаны в результате анализа политенных хромосом слюнных желез личинок. Уже первые биохимические эксперименты показали, что в единственной политенной Х-хромосоме самца дрозофилы количество негистоновых белков примерно в 1,5 раза больше, чем в одной из Х-хромосом самки. Разрыхленность структуры и обогащенность негистоновыми белками являются структурной основой для проявления дозовой компенсации. Эксперименты показали, что интенсивность транскрипции в Х-хромосоме самца в 2 раза выше, чем в одной Х-хромосоме самки. Этот эффект вызван активностью MSL-комплекса (Male-specific lethal complex), который включает: белки MSL 1-3, MLE (RNA helicase), MOF (histone acetyltransferase), JIL-1 (protein kinase), roX1, roX2 (RNA on the X), а также специфически модифицированным гистоном H4Ac16. Ключевую роль во включении этого механизма играет взаимодействие продукта гена *SXL*, образованного при половом индексе 0,5 и белка MSL-2, который образуется только у самцов. При наличии белка MSL-2 с ДНК могут связаться и другие белки комплекса MSL и H4Ac16, которые делают ДНК более рыхлой, тем самым повышая уровень транскрипции с Х-хромосомы.

3.2. Детерминация и дифференцировка пола у нематоды (*Caenorhabditis elegans*)

Свободноживущая почвенная нематода (*C. elegans*) широко используется как модельный объект в исследованиях по генетике и биологии развития. Это был первый многоклеточный организм, чей геном полностью секвинирован в 1998 г. Нематода имеет два пола: XX – гермафродиты (более 99% популяции) и X0 – самцы, которые могут появляться в популяции спонтанно с частотой 0,1% при нерасхождении Х-хромосом. Если гермафродитные особи спариваются с самцами, что является достаточно редким событием, то соотношение самцов и гермафродитов приближается к 1:1. Детерминация пола у нематоды, также как и у дрозофилы, определяется отношением числа Х-хромосом к числу наборов аутосом. Отношение Х/А устанавливается на молекулярном уровне с помощью отдельных элементов, кодируемых сцепленными с Х-хромосомой генами-нумераторами *SEX-1* (*X-signal elements-1*) и *FOX-1* (*feminizing locus on X*).

Белок SEX-1 действует на транскрипционном уровне, а белок FOX-1 пост-транскрипционно. Эти два белка управляют уровнем экспрессии ключевого гена-переключателя *XOL-1* (*XOl-1 lethal*) – рис. 17.

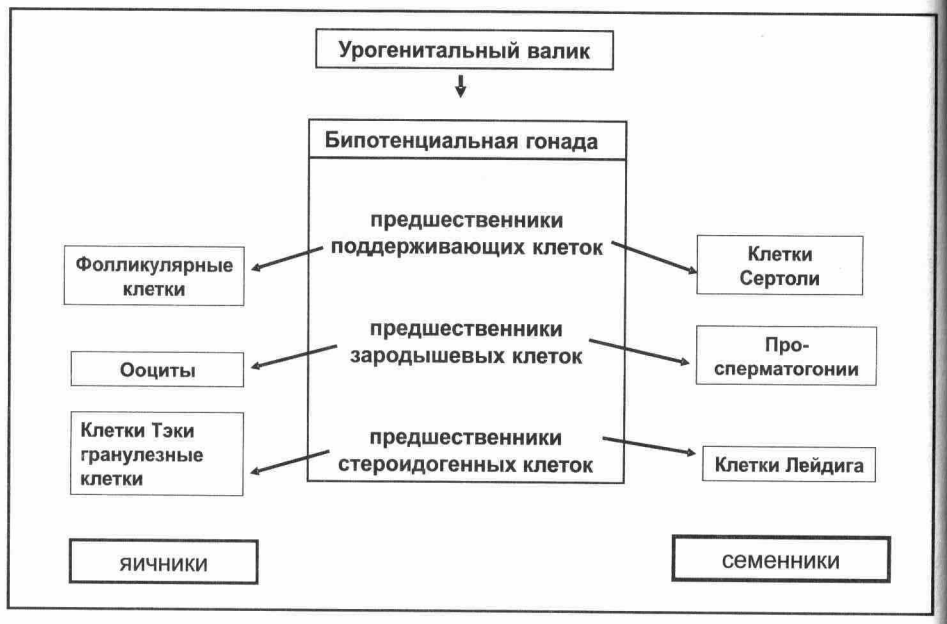


Рис. 23. Структура гонады на бипотенциальной стадии и при последующей дифференцировке в семенники и яичники

На стадии дифференцировки Вольфовы и Мюллеровы протоки подвергаются специфической редукции. Для формирования мужского фенотипа необходима секреция 2 гормонов. Первый – Антимюллеров гормон, секретируется клетками Сертоли и вызывает регрессию Мюллеровых протоков. Второй – тестостерон, секретируется клетками Лейдига и необходим для дифференцировки Вольфовых протоков в придаток яичка, семявыносящий проток и семенной пузырек. Под контролем другого гормона тестостерона в ходе вторичной детерминации из Вольфовых протоков формируются мужские внутренние половые протоки. В мочеполовом синусе тестостерон превращается в 5α-дегидротестостерон, при участии которого формируются наружные половые органы – пенис и мошонка. В отсутствие АМН Мюллеровы протоки развиваются в матку, маточные трубы и влагалище. В то же время Вольфовы протоки подвергаются дегенерации (рис. 24).

Молекулярный механизм такой дегенерации до конца не выяснен, однако возможно здесь включается механизм апоптоза.

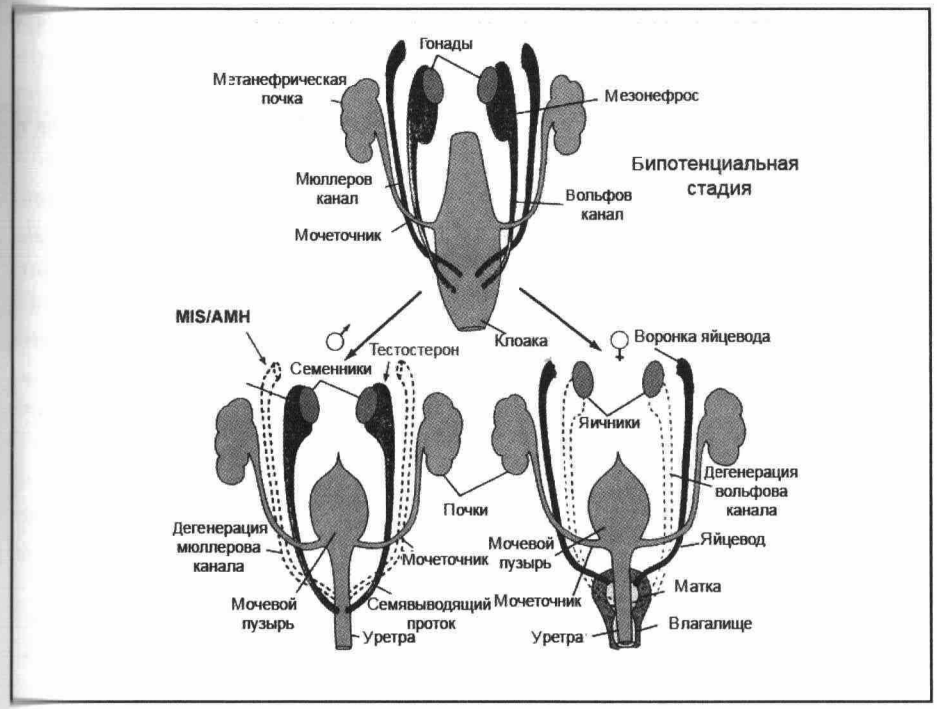


Рис. 24. Дифференцировка бипотенциальной гонады в мужские и женские репродуктивные органы

3.3.2. Генетический контроль половой дифференцировки у млекопитающих и человека

Процесс дифференцировки у многоклеточных организмов включает универсальные механизмы развития, базирующиеся на эволюционной консервативности ключевых семейств генов, участвующих в этом процессе. Механизмы реализации дифференцировки различны, среди них укажем лишь некоторые – это регуляция клеточных делений, благодаря которым происходит активация клеточных делений в одной группе клеток и подавления в другой, межклеточные взаимодействия, а также генетически запрограммированная гибель клеток (апоптоз). Все эти механизмы являются проявлением эмбриональной индукции, когда в процессе эмбриогенеза один тканевой (органный) зачаток через индуктор влияет на другой (компетентную ткань), определяя путь его развития, при этом сам подвергается индуцирующему воздействию со стороны первого зачатка.

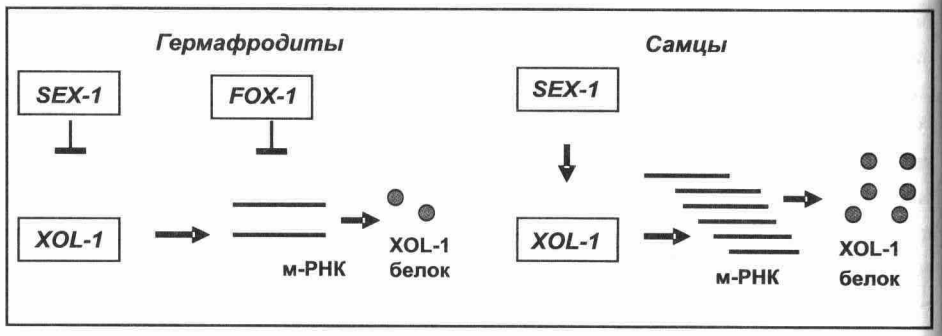


Рис. 17. Генетическая модель установления отношения X/A. Гены X-хромосомы – нумераторы *SEX-1* (*signal element on X*) и *FOX-1* (*feminizing locus on X*) и аутосомные денумераторы *XOL-1* – (*XO Lethal-1*)

Уровень экспрессии гена *XOL-1* существенным образом определяет последовательное ингибирование генов в цепи передачи сигнала, который можно схематично представить как *XOL-1* → *TRA-1*(*Transformer-1*).

Функция гена *XOL-1* связана с пол-специфической регуляцией генов в каскадной цепи передачи сигнала в ядро на транскрипционном и посттранскрипционном уровне. Эти две формы регуляции определяются сигналом X/A, в передаче которого участвуют гены *SDC-1-3* (*Sex Determination and Dosage Compensation in X*). Определяющими моментами в этом процессе является активация гена *TRA-1* (не родственного гену *TRA* дрозофилы). При этом промежуточный участник – белок FEM, удерживает TRA-1 в цитоплазме (диссоциирует с последним при детерминации пола по XX-гермафродитному пути). В результате белок TRA-1 свободно действует в гермафродитах и регулирует другие отдельные гены.

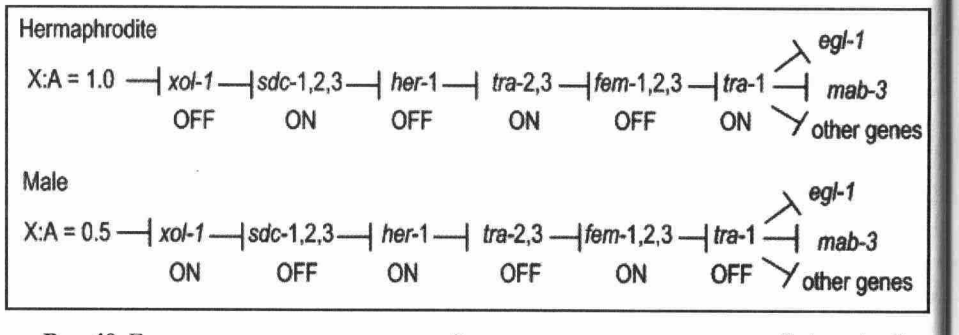


Рис. 18. Генетическая модель соматической детерминации пола у нематоды *C. elegans (по Chen, Ellis 2000)*

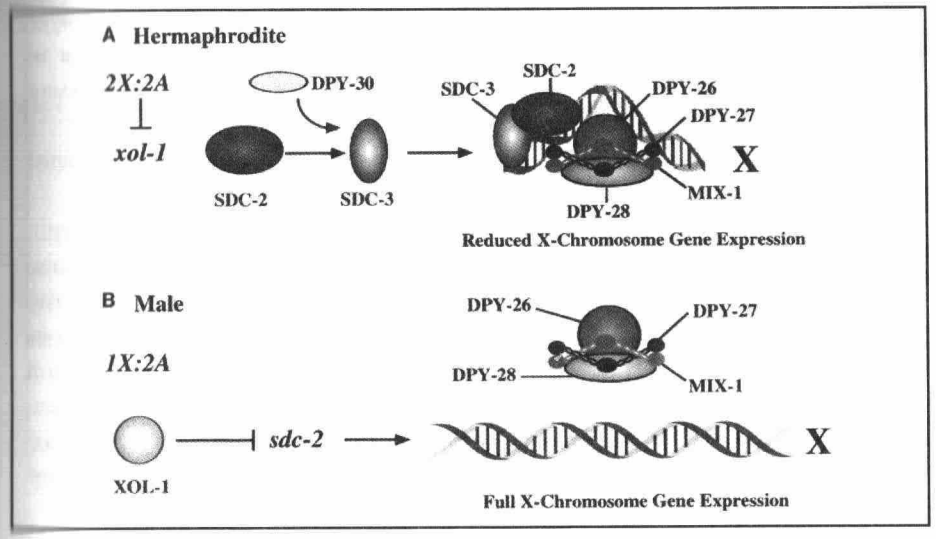


Рис. 19. Модель реализации механизма дозовой компенсации на основе снижения уровня экспрессии X-сцепленных генов у нематоды [J.D.Lieb at al., 2000]

Сигнальная цепочка детерминации пола *C. elegans* представлена на рис. 18.

Она показывает, что перемещение в ядро транскрипционного фактора TRA-1 означает реализацию гермафродитного фенотипа. Фактор Her-1 особи X0, взаимодействуя с мембрано-связанным белком TRA-2, приводит к формированию пола по мужскому типу.

Компенсация дозы генов у нематоды. У гермафродитных особей нематоды уровень транскрипции с каждой из X-хромосом уменьшен почти в 2 раза по сравнению с экспрессией X-сцепленных генов у самцов (рис. 19).

Это достигается специфическим белковым комплексом DCC (dosage compensation complex), который формируется из белков DPY-26, -27, -28 и MIX-1, последний участвует также в сегрегации хромосом в митозе и мейозе. Перечисленные белки локализуется на обеих X-хромосомах гермафродитной особи.

3.3. Генетический контроль детерминации и дифференцировки пола у млекопитающих и человека

Представления о детерминации пола у млекопитающих в середине XX века базировались на двух принципах:

- наличие семенников являлось необходимым для формирования мужского фенотипа. Это следовало из экспериментов Жоста, когда из кастрированного эмбриона крысы с хромосомами XY развивалась фенотипическая самка;
- пол контролируется половыми хромосомами – самки имеют 2 X-хромосомы, а самцы X- и Y-хромосомы.

Эти принципы не противоречили случаям, которые были зарегистрированы у человека, когда пациенты с одной X-хромосомой и отсутствием Y- (45, X) имели женский фенотип. Присутствие Y-хромосомы, независимо от числа X-хромосом (46, XY; 47, XXY), давало мужской фенотип. На основе этих фактов была сформулирована гипотеза о сцеплении с Y-хромосомой доминантного тестис-детерминирующего фактора (TDF), который должен был включать ген или гены, которые определяют развитие мужских гонад. В отсутствии TDF гонады развивались в яичник, что проявлялось в специфичности женского фенотипа.

В 1987 г. Д.Пэйдж и его коллеги, исследуя мужчину XX, унаследовавшего фрагмент (280 т.п.н.) Y-хромосомы и женщину XY с делецией, захватывающей эту область, пришли к выводу о связи данного района Y-хромосомы с тестис-детерминирующей функцией. Кандидатным геном стали считать присутствующий в этом локусе Y-хромосомы всех настоящих зверей Eutheria ген *ZFY* (*zinc finger protein, Y-linked*). Однако довольно быстро накопились данные, не позволяющие отождествлять *ZFY* и TDF.

В ходе дальнейших исследований, в результате молекулярно-генетического анализа 4 мужчин XX с реверсией пола был обнаружен фрагмент (60 т.п.н.) Y-хромосомы. У женщины XY, не имеющей цитогенетических нарушений, была обнаружена мутация (frameshift) в гене, который был назван *SRY* (*sex-related Y*). Ген *SRY* с тестис-детерминирующей функцией был также идентифицирован при анализе других пациентов с реверсией пола, у которых были выявлены одиночные замены оснований. Однако как ключевой тестис-детерминирующий ген он был определен только после поиска среди нескольких генов-кандидатов, локализованных на Y-хромосоме. На модельном объекте (мышь – Mus musculus), который был использован в экспериментах по получению трансгенных особей и техники «нокаутирования» гена, были получены бесспорные доказательства роли гена *SRY* в детерминации развития мужских гонад. Трансгенные мыши XX, несущие фрагмент 14 т.п.н. гена *SRY*, были фенотипическими самцами, но неспособными формировать жизнеспособные сперматозоиды (рис. 20).

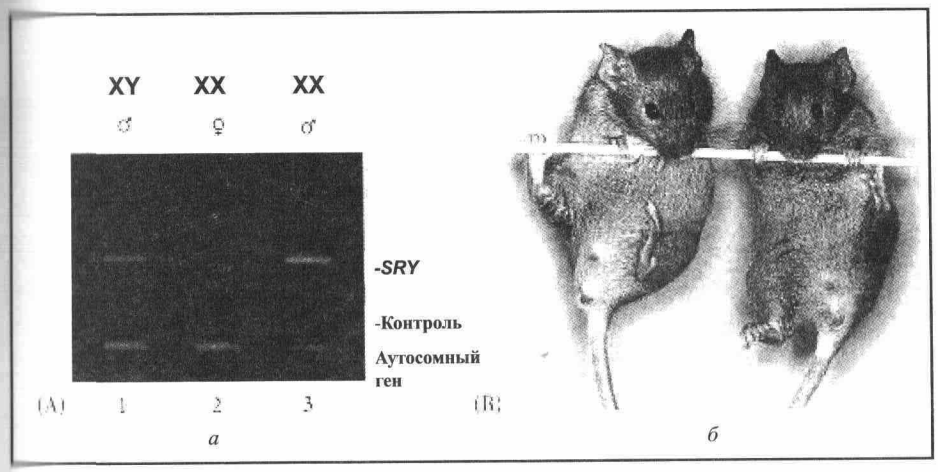


Рис. 20. Трансгенная мышь (XX +*Sry*-): а) экспрессия гена *SRY* у трансгенной мыши *SRY* + XX; б) фенотипические самцы XX + *SRY* [P.J.Koopman at al, 1991]

В дальнейшем ген *SRY* был обнаружен у всех исследованных самцов млекопитающих, что свидетельствовало о консервативности его структуры и функции. Помимо гена *SRY* были идентифицированы и другие гены, необходимые для нормального развития гонад.

Для понимания процесса формирования гонад и его генетического контроля следует представить всю сложную картину раннего эмбриогенеза у млекопитающих и человека. Такую возможность дает модельный объект генетики развития мышь (*Mus musculus*).

3.3.1. Этапы формирования гонад: от бипотенциальности к дифференцированным гонадам мыши и человека

Современные молекулярно-генетические технологии позволяют достаточно детально исследовать все этапы гонадогенеза мыши(*M. musculus*), который проходит с 9,5- по 15,5-й дни эмбриогенеза после оплодотворения.

Закладка гонад начинается с момента гаструляции, когда сформированы эктодерма, эндодерма и мезодерма, из последней начинает формироваться гонадный валик (рис. 21).

Процесс гонадогенеза у млекопитающих можно разделить на две стадии. Первая, индифферентная или бипотенциальная гонада (гонадный валик),

Запуск процесса дифференцировки гонад у человека и мыши означает переход от бипотенциальной стадии к стадии дифференцировки, в котором участвуют до сотни генов, многие из которых картированы и достаточно полно изучены, установлены их экзон-интронная структура, молекулярная и организменная функции.

Ключевые гены развития мужских гонад. Огромная роль по установлению генов, участвующих в развитии гонад, принадлежит анализу редких случаев реверсий пола у человека и различных отклонений в развитии урогенитальной системы. Благодаря цитогенетическому анализу, молекулярно-генетическим подходам и стратегии позиционного клонирования были выделены гены млекопитающих и человека, непосредственно связанные с развитием гонад: *SRY, SOX9, WT1, SF1, DMRT1, GATA4, DAX1LHX9* и гены сигнальных молекул *AMH, WNT4, FGF9* и *DHH*.

Ген *SRY* (*sex determiming region Y*) идентифицирован в коротком плече Y-хромосомы человека на границе PAR1 и NRY (Yp11.31-32). Это безинтронный ген длиной 1 т.п.н., относится к семейству SOX транскрипционных факторов. Белок SRY является множественным транскрипционным фактором с тремя доменами. Первый, ДНК-связывающий домен, представляет HMG-бокс с участком из 79 аминокислотных остатков, который связывается с регуляторными последовательностями ДНК и изменяет ее архитектуру. Второй домен – Ca-связывающий (CaM-calmodulin), обеспечивает транспорт Ca, третий – импортин-ß (Impß) обеспечивает транспорт белка в ядро. Такая многофункциональность белка SRY свидетельствует об его участии в регуляции действия многих генов (рис. 25).

В геномной структуре *SRY* последовательность HMG-бокса является консервативной областью для всех млекопитающих, за пределами этой последовательности наблюдаются существенные различия между гомологами *SRY* даже у близких видов. Ключевая роль гена *SRY* заключается в запуске программы дифференцировки бипотенциальной гонады в семенники.

Включение программы дифференцировки гонад начинается с миграции клеток мезонефроса в гонадный валик. Запуск этого процесса зависит от активности тестис-детерминирующего фактора. Такой функцией обладает ген *SRY*, который в клетках генитального валика индуцирует секрецию хемотоксического фактора, и тем самым дает возможность клеткам мезонефроса мигрировать в гонадный валик. Эти мезонефрические клетки индуцируют превращение эпителиальных клеток гонадного валика в клетки Сертоли. Роль гена *SRY* в этом процессе была показана в тонких экспериментах по

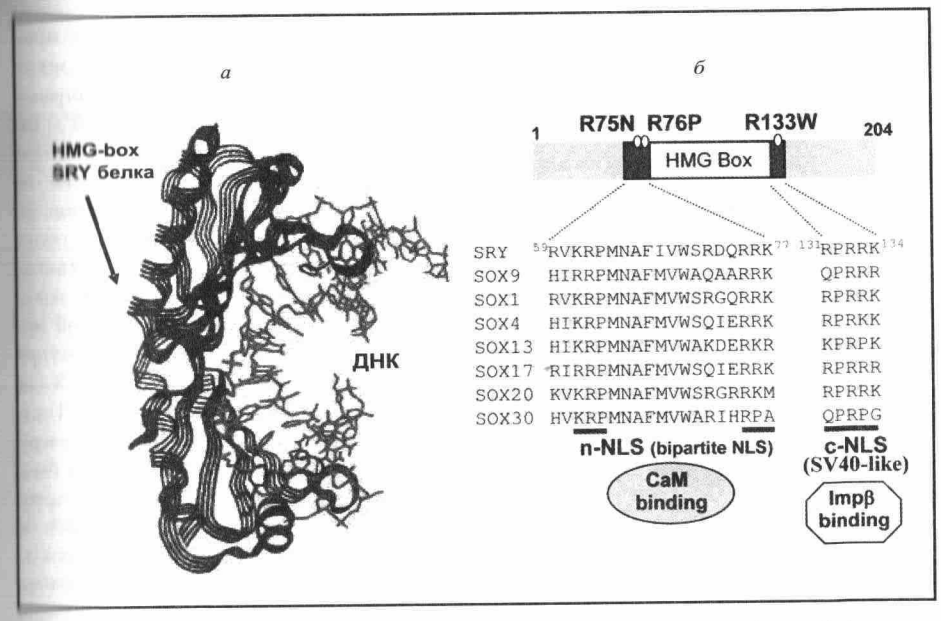


Рис. 25. Взаимодействие ДНК с SRY белком – а; структура доменов SRY белка – б. Домены – HMG-box; CaM – калмодулин; Impβ – импортин [C.Haqq et al., 1994]

трансплантации с эмбрионами мышей. Для этого были созданы трансгенные мыши с репортерным геном *lacZ*, кодирующим синтез β-галактозидазы. Активность галактозидазы можно идентифицировать *in situ* и *in vitro* при инкубации с субстратом X-gal. β-галактозидаза расщепляет X-gal, а хромогенный субстрат дает синюю окраску. Такая техника позволила доказать факт миграции клеток мезонефроса только у самцов XY и трансгенных мышей XX + *SRY* (рис. 26).

В этих опытах была выявлена прямая связь между геном *SRY*, миграцией клеток мезонефроса в гонадный валик и формированием семенников. Однако исключительно важными для развития пола являются гены, контролирующие формирование бипотенциальной структуры гонадного валика, мутации которых также приводят к значительным нарушениям урогенитальной системы и реверсии пола. В этой связи стоит обратить внимание на два важнейших гена, экспрессирующихся на бипотенциальной стадии – *SF1* и *WT1*.

Ген *WT1* (*The Wilms' tumor*) – супрессор опухоли был установлен при исследовании пациентов с опухолью яичек Вильмса, аниридии, синдрома

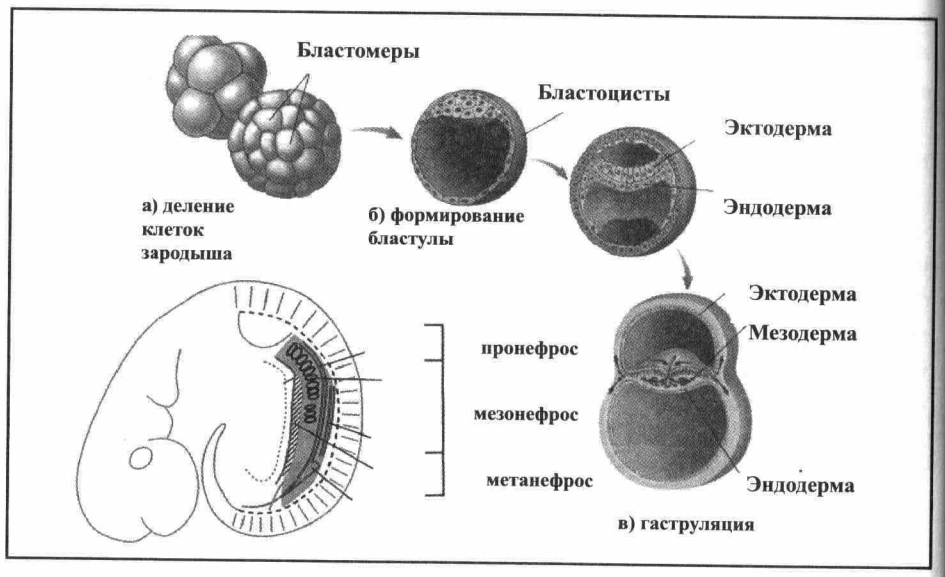


Рис. 21. Формирование гонадного валика у эмбриона мыши на ранних этапах эмбриогенеза

идентична как у мужских, так и у женских особей. Путь, по которому пойдет вторая стадия развития, зависит от присутствия или отсутствия тестис-детерминирующего фактора *TDF*.

Индифферентная гонада представляет структуру внутри промежуточной мезодермы, в которой можно выделить три сегмента:

1) пронефрос;
2) мезонефрос, из которого собственно происходит гонада;
3) метанефрос, дающий начало для формирования почки (рис. 22).

Ранняя бипотенциальная гонада состоит из трех типов недифференцированных примордиальных клеток: первичных зародышевых (ПЗК), предшественников поддерживающих и предшественников стероидогенных клеток, а также двух протоков – Мюллерова и Вольфова (см. рис. 21, 22). Судьба этих клеток при дифференцировке определяется генетически, наличием или отсутствием TDF.

Первичные зародышевые клетки мигрируют из аллонтоиса в мезонефрос в период с 9,5- по 11-й день эмбриогенеза. Пролиферация зародышевых клеток в бипотенциальной гонаде до 12,5-го дня эмбриогенеза одинакова как у особей XX, так и у XY. На второй стадии гонадогенеза у особей XY ПЗК

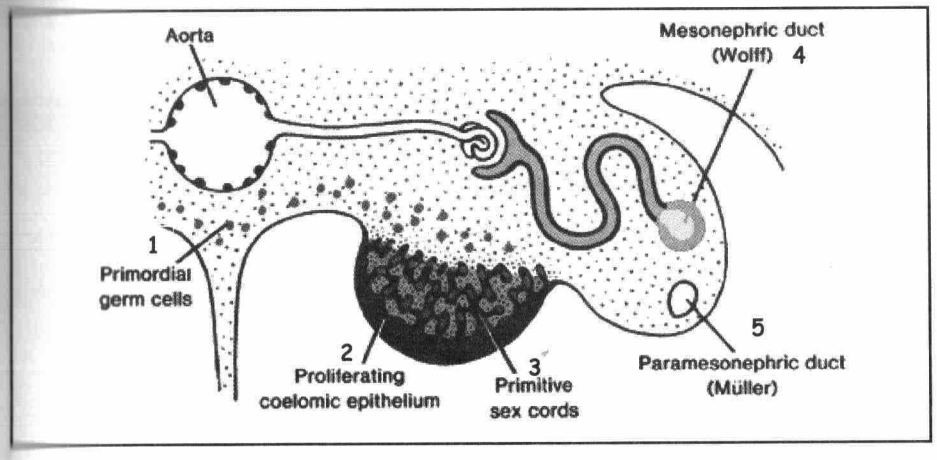


Рис. 22. Структура бипотенциальной гонады млекопитающих: 1 – примордиальные зародышевые клетки; 2 – клетки целомического эпителия (поддерживающие и стероидогенные); 3 – примитивный гонадный валик; 4 – мезонефрический Вольфов канал; 5 – парамезонефрический Мюллеров канал

специфически дифференцируются в просперматогонии, а у XX – в оогонии. При последующем развитии в семенниках происходит запрет митотического деления, которое возобновляется только после рождения. Клетки зародышевой линии в яичниках мыши претерпевают последний митоз на 13,5-й день эмбриогенеза, а затем входят в мейоз и останавливаются на стадии G_0 клеточного цикла.

Поддерживающие клетки-предшественники превращаются у самцов в клетки Сертоли, а у самок – в фолликулярные клетки. В клетках Сертоли осуществляется секреция Антимюллерова гормона (AMH). В женской гонаде фолликулярные клетки окружают зародышевые клетки и секретируют стероидный гормон.

Стероидогенные поддерживающие клетки в мужской гонаде дифференцируются в клетки Лейдига, секретирующие гормон тестостерон, в женской гонаде они превращаются клетки Тэки и гранулезные клетки (рис. 23).

Сначала клетки Тэки синтезируют андрогены, которые диффундируют в клетки гранулезы, в которых затем происходит секреция эстрогена. Эту систему регулируют трофический лютеинизирующий гормон (LH) и фолликулостимулирующий гормон (FSH).

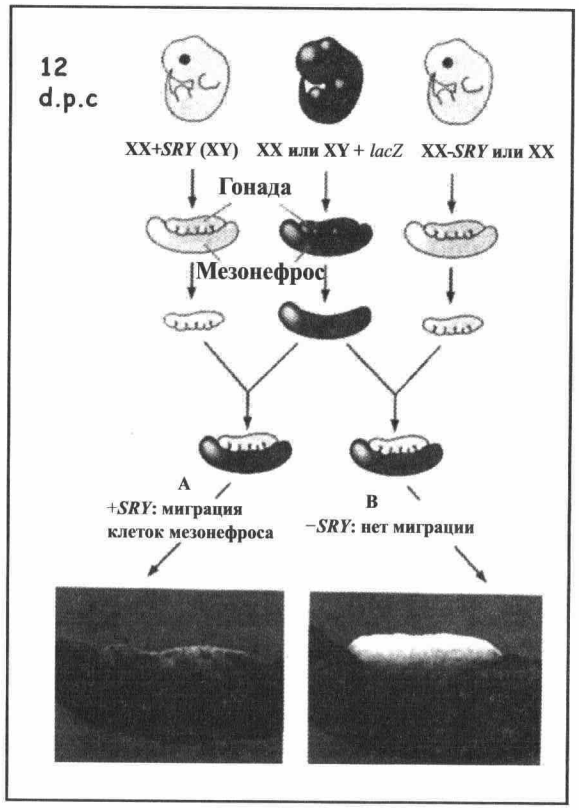


Рис. 26. Миграция клеток мезонефроса в зачатки гонад мыши SRY (Mus musculus): а – миграция в присутствии гена *SRY*; б – отсутствие миграции клеток без гена *SRY*. Урогенитальный валик на 12-й день эмбриогенеза мыши состоит из мезонефрической почки и зачатка гонады. Одна из мышек маркирована репортерным геном *LacZ* (β-galactosidase), который экспрессировался в каждой клетке; при окрашивании препаратом X-Gal проявлялась синяя окраска. Гонада и мезонефрос были разделены и затем для трансплантации была использована гонада от немаркированной мыши и мезонефрос от маркированной; а – миграция клеток мезонефроса к гонадные клетки мыши XY или трансгенной мыши XX + *SRY*; б – отсутствие миграции клеток мезонефроса в гонаду XX или XXY с делецией по *SRY*. Половые хромосомы мезонефроса не влияют на миграцию, а только ген *SRY* [C.Tilmann, B.Capel, 1999]

Денис-Драша и синдрома Фрайзера. Стратегия позиционного клонирования привела к идентификации гена супрессора опухоли *WT1* в хромосоме 11(p13). Ген *WT1* состоит из 10 экзонов и кодирует транскрипционный фактор типа «цинковые пальцы». Этот ген необходим для нормального развития урогенитальной системы и его экспрессия начинается при формировании бипотенциальной структуры гонадного валика и продолжается при дифференцировке, при этом в строго ограниченных пространственных и временных рамках. В гонадах мыши экспрессия начинается с 9,5-го дня в клетках целомического эпителия, а на стадии дифференцировки ограничивается клетками Сертоли у самцов и фолликулярными клетками у самок. Мыши с нокаутированным геном *WT1* не жизнеспособны, так как у них не формируются гонады, почки и надпочечники.

Известно 24 изоформы белка WT1, образование которых возможно в результате регуляции активности гена на уровне процессинга РНК-

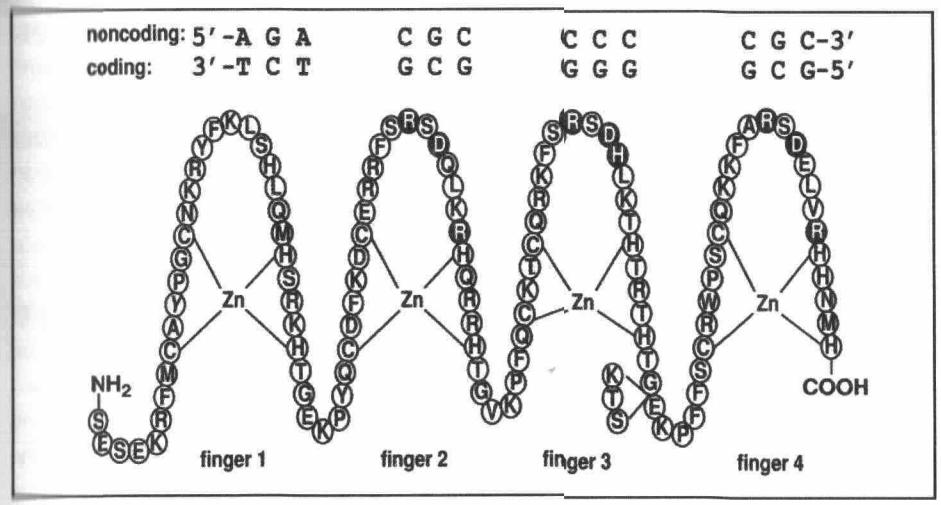


Рис. 27. Структура белка WT1 (транскрипционный фактор типа «цинковые пальцы»). Альтернативный сплайсинг со 2-го донорного сайта экзона 9 ведет к инсерции трипептида в линкер между 3 и 4 C2H2 цинковыми пальцами, которые изменяют ДНК-связывающую функцию WT1 [+KTS-lysine(K), threjnine (T), serine (S)] [A.Hossian, C.F.Saunders, 2001]

альтернативного сплайсинга, РНК-редактирования и альтернативной транскрипции с разных стартовых сайтов. Белок WT1 регулирует транскрипцию других генов, действуя как активатор, коактиватор, либо как репрессор; *WT1* трансактивирует экспрессию гена *SF1* и совместно с ним регулирует экспрессию гена *SRY*.

Для нормального развития гонад, почек и других органов в клетках должно быть равновесное соотношение двух основных изоформ белка – Wt1+KTS и Wt1-KTS (рис. 27).

Отсутствие Wt1+KTS изоформ у XY ведет к полной реверсии пола вследствие снижения уровня экспрессии *SRY* (синдром Дениса-Драша). Отсутствие Wt1-KTS изоформы ведет к смерти в течение 24 ч после рождения (синдром Фрайзера).

Ген *SF1* (*Steroidogenic Factor1*) картирован в хромосоме 9 (q33), кодирует транскрипционный фактор семейства ZFP (*Zinc finger protein*). У нескольких пациентов 46 (XY) с реверсией пола и почечной недостаточностью были выявлены мутации по гену *SF1*. Экспрессия *SF1* начинается раньше, чем гена *SRY* и его активность выявляется на последующих стадиях эмбрионального развития мужских и женских гонад. Этот ген играет определяющую роль в формировании гонадного валика и надпочечников. Ген *SF1* регулирует

сигнального пути, который контролируется генами *Rspo1* и *Wnt-4*. У мышей XX с нокаутированным геном *Rspo1* наблюдали маскулинизацию гонад, а также подавление активности гена *Wnt-4* и как следствие – васкуляризацию и стероидогенез по типу, характерному для развития XY-особей. На втором этапе развития женских гонад экспрессия гена *SOX9* должна быть супрессирована (экспрессия *SOX9* была важна только на стадии формирования бипотенциальной гонады). Супрессорную функцию выполняет ген *FOXL2* с эстрогеновым рецептором *ESR1*. Таким образом, можно заключить, что гены *SOX9* и *FOXL2* являются антагонистами и уровень активности каждого из них определяет судьбу гранулезных клеток при формировании семенников или яичников.

Из вышеизложенного следует, что в поддержании фенотипа яичников генетический контроль осуществляется в течение всей жизни. Кроме того, результаты этих работ имеют большое значение для клинической медицины и могут быть использованы при лечении ряда нарушений формирования пола у детей и коррекции преждевременной менопаузы у женщин.

3.3.3. Роль гормонов в развитии пола. Гены рецепторов гормонов

Мужской и женский половые фенотипы формируются многоэтапно, начиная с момента образования зиготы и кончая половым созреванием (пубертацией). Формирование пола в онтогенезе определяется генетическими и гормональными механизмами, последовательно обеспечивающими у животных проявление альтернативных первичных и вторичных половых признаков.

Первичные половые признаки детерминируются генетически, обусловливая только тип гонад (семенники или яичники), при этом генетический пол определяет гонадный. Соотношение секретируемых ими андрогенов и эстрогенов различно, у мужских особей андрогенов значительно больше, чем у женских. Вторичные половые признаки у самцов позвоночных целиком зависимы от гормонов гонад, включая тип полового тракта, наружных гениталий, молочных желез, характер секреции гонадотропинов гипофизом, специфику поведения и адаптивных процессов.

Мужские половые гормоны. Первым из гормонов половых желез эмбрионов млекопитающих появляется Антимюллеровый гормон (АМГ), образующийся в клетках Сертоли. Эти клетки и дифференцируются в семенниках самыми первыми. Наряду с АМГ в клетках Сертоли экспрессируются также и его рецепторы. Первичная функция АМГ заключается в инициации регрессии

Мюллеровых структур у самцов, что является частью нормального процесса формирования мужского фенотипа. Кроме того, АМГ влияет на рост и дифференцировку клеток семенников, а также на стероидогенез.

Половые различия по уровню андрогенов начинают проявляться у плодов млекопитающих в течение второй половины эмбриогенеза. Этот повышенный уровень гормона является чрезвычайно важным для последующих процессов формирования широкого спектра свойств и признаков мужского пола от особенностей морфологии урогенитального тракта до поведения. Секреция клетками Лейдига тестостерона необходима для дифференцировки мужских репродуктивных органов. Тестостерон способствует стабилизации Вольфовых каналов и образованию из них эпидидимиса, выносящих канальцев, семенных пузырьков и предстательной железы. Большинство эффектов тестостерона в периферических тканях опосредуется его метаболитом – α-дигидротестостероном (рис. 31).

Действие андрогенов осуществляется через внутриклеточные рецепторы, которые функционируют как лиганд-зависимые транскрипционные факторы. Экспрессия этих рецепторов наблюдается в течение эмбриогенеза в Вольфовых каналах, развивающихся наружных гениталиях и гипофизе. Их количество в эмбриональном урогенитальном тракте модулируется андрогенами либо путем индукции пролиферации андроген-чувствительных клеток, либо в результате повышения числа рецепторов в отдельных клетках. В небольшом количестве синтезируются в яичках эстрогены.

Для нормального развития мужских половых органов необходим не только достаточный уровень андрогенов, но и нормально функционирующие андро-

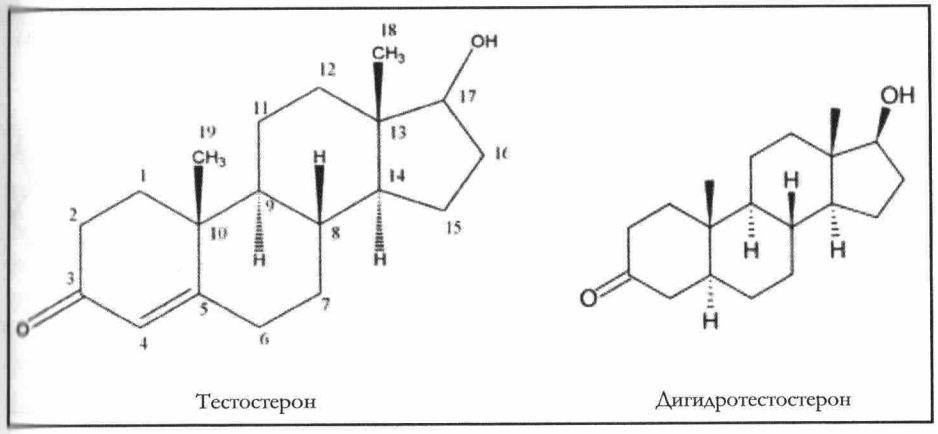


Рис. 31. Мужские половые гормоны

экспрессию других генов, вовлеченных в стероидогенез и половую дифференцировку. Такая регуляция осуществляется при взаимодействии с транскрипционными факторами – SRY, WT1 и SOX9 с образованием белкового комплекса высокого порядка. Кроме того, установлено, что *SF1* может взаимодействовать с геном *DAX-1*, который необходим для нормального развития женских гонад. Проявление мутации по гену *SF1* человека зависит от дозы функционального гена, поэтому у гетерозигот имеет место негативно-доминантный характер взаимодействия аллелей.

Анализ всех синдромов, связанных с реверсией пола, привел к идентификации новых генов, вовлеченных в формирование бипотенциальной гонады и ее последующего развития. Среди случаев с реверсией пола и гонадного дисгенеза у пациентов 46, XY были обнаружены делеции в хромосоме 9 (локус 9p21 – 9p24). Этот факт указывал на важность этого района в развитии семенников. Молекулярно-генетическим анализом этого локуса были идентифицированы 3 гена, которые оказались гомологичными генам *DXS* дрозофилы и *MAB-3* нематоды по DM домену. Эти гены названы *DMRT-1* и *DMRT-2*, *DMRT-3*, из них наиболее важным для развития мужских гонад считается *DMRT-1*, а его ортологи со сходной функцией обнаружены у насекомых и у многих позвоночных, что свидетельствует о высокой консервативности DM домена. У человека *DMRT-1* экспрессируется в гонадном валике 6–7-недельного мужского эмбриона и не обнаруживается в женском. Гемизиготность по этому гену является причиной нарушения тестикулярного развития и феминизации XY.

Гены, контролирующие дифференцировку мужских гонад. Ген *SOX9* (*Sry-related HMG-box)* картирован в хромосоме 17 (q24.3-25), кодирует множественный транскрипционный фактор, который также содержит HMG box. У человека эмбрион XX с дополнительной копией гена *SOX9* развивается как мужчина, даже при отсутствии гена *SRY*. У пациентов, имеющих только одну функциональную копию этого гена, проявляется синдром CD, так называемая *campomelic dysplasia*. Это наследственное заболевание, проявляющееся в сильном нарушении развития скелета и других органов. Примерно 75% XY пациентов с этим синдромом являются фенотипическими женщинами или гермафродитами, что указывает на существенную роль *SOX9* в развитии семенников. Полоопределяющая роль *SOX9* связана с дифференцировкой клеток Сертоли, что было показано при анализе его экспрессии на различных стадиях эмбриогенеза мыши.

На бипотенциальной стадии, как у самок, так и у самцов мыши экспрессия *SOX9* была на низком уровне, а на стадии дифференцировки гонад *SOX9*

экспрессировался только у самцов в клетках Сертоли, продуцирующих Анти-Мюллеров гормон, который и вызывает регрессию Мюллеровых протоков. Было показано, что белок SOX9 может связываться с промоторным сайтом гена *AMH* (*Anti-Muller hormone*) и активировать его транскрипцию. Ген *SOX9* выявлен у всех позвоночных, что свидетельствует о его высокой консервативности на протяжении эволюции.

Ген *AMH*- или MIS-фактор (*Mulleran inhibing substance*) картирован в хромосоме 19 (p13.2.-3.), содержит 5 экзонов и кодирует белок гликопротеин. Экспрессия гена *AMH* начинается после связывания его раннего промотора с консенсусной последовательностью гена *SRY* – AACAAT/A. У мышей *AMH* начинает экспрессироваться в клетках Сертоли на 12-й день развития. Регуляция экспрессии *AMH* осуществляется с помощью транскрипционных факторов SF1, WT1, SOX9 и GATA1, образующих сложные комплексы, и специфически связывающиеся с промоторными областями. Так, промотор обязательно содержит домен связывания с SF1, у мышей, несущих мутацию в этом участке экспрессия *AMH* в семенниках отсутствует. Предполагается, что тканеспецифичная экспрессия AMH достигается за счет совместного действия *SF1* и *SOX9*. Изоморфа WT1-KTS совместно с *SF1* также усиливает экспрессию *AMH*, при этом *DAX1* подавляет действие этого комплекса.

Гены, контролирующие дифференцировку женских гонад. Программа дифференцировки бипотенциального гонадного валика в яичники запускается по умолчанию, в отсутствии ключевого гена *SRY*. В настоящее время установлена важнейшая роль в этом процессе трех генов – *DAX1, WNT4* и *RSPO1*.

Ген *DAX1* (*dosage-sensitive sex reversal X-1)* или другое название (NR0B1 – *nuclear recepton*), картирован в коротком плече X-хромосомы (p21.3-21.2). Выявлению этого гена предшествовал цитогенетический анализ 2 сестер XY, у которых был обнаружен дуплицированный участок на X хромосоме, так называемый дозо-чувствительный локус DSS (*dosage-sensitive sex reversal*) – рис. 28.

При дальнейшем молекулярно-генетическом анализе был идентифицирован ген *DAX1*, кодирующий гормональный ядерный рецептор, у которого нет домена для связывания с ДНК, как у многих других ядерных рецепторов, но имеется белок-связывающий домен. Поэтому регуляция экспрессии других генов осуществляется через белок-белковые взаимодействия, при этом *DAX1* действует как доминантно-негативный регулятор транскрипции других ядерных рецепторов, включая SF1.

Первоначально предполагалось, что *DAX1* детерминирует развитие яичников и в норме репрессирован у мужчин. Однако его экспрессия в разви-

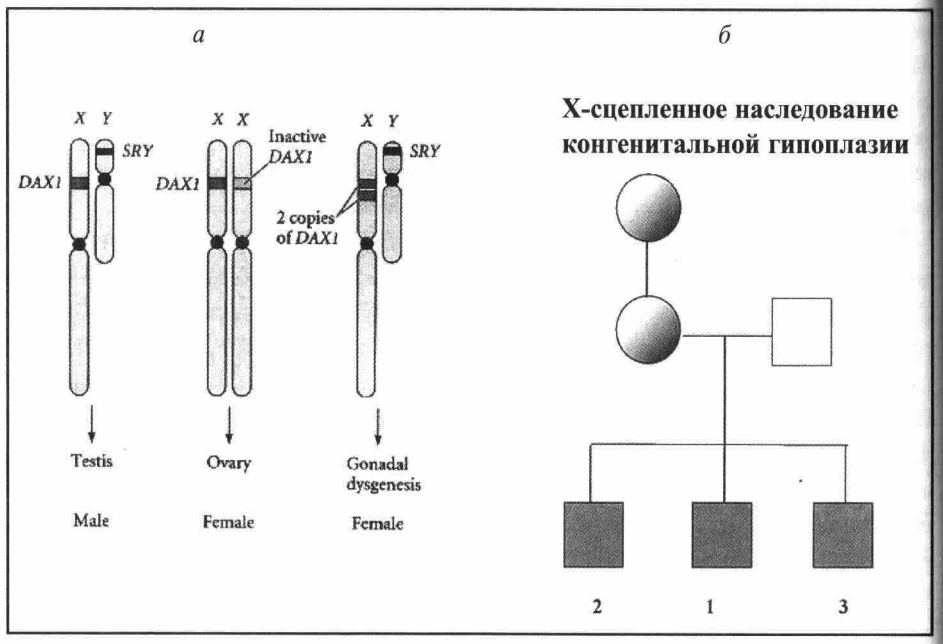


Рис. 28. Ген *DAX1*. Реверсия пола, обусловленная дупликацией *DAX1* у сестер XY (*а*); родословная по наследованию Х-сцепленной конгенитальной гипоплазии (*б*) [L.E.P.Calliari, C.A.Lonqui et al., 2007]

вающихся надпочечниках, гипоталамусе и гонадах у представителей обоих полов свидетельствует о его плейотропном действии. Роль DAX1 заключается не только в развитии яичников, но и в пролиферации клеток, необходимых для формирования семенников. Подтверждением является родословная 3 братьев с конгенитальной гипоплазией, которые получили Х-хромосому с мутацией в гене *DAX1* от бабушки (см. рис. 28, *б*).

В опытах с трансгенными мышами было обнаружено антогонистическое взаимодействие между генами *SRY* и *DAX1*. Это проявлялось в конкуренции за связывание со стероидогенным фактором SF1 (рис. 29).

Огромное значение имеет уровень и время экспрессии этих генов. При ненормально высоком уровне экспрессии *DAX1* (дупликация) или если его экспрессия начинается раньше *SRY*, то *SF1* репрессируется, что в свою очередь исключает возможность образования Антимюллерова гормона клетками Сертоли, что в итоге приводит к реверсии пола. Мутации в гене *DAX1* являются причиной специфических нарушений в развитии урогенитальной

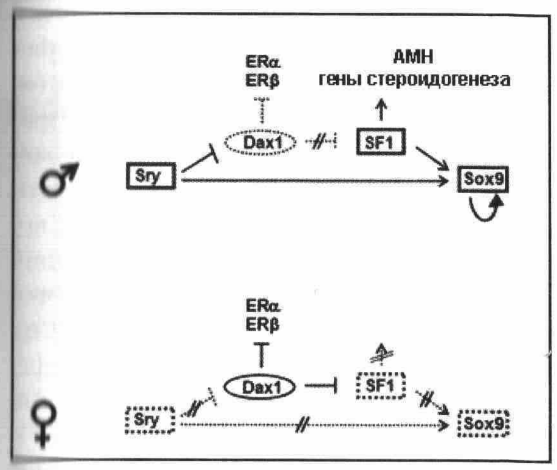


Рис. 29. Схема антагонистического взаимодействия генов DAX1 и SRY; ERα и ERβ – рецепторы эстрогенов

системы, наиболее характерными проявлениями которых является конгенитальная гипоплазия надпочечников и гипогонадотропный гипогонадизм.

Ген *RSPO1* обнаружен совсем недавно, а его роль в детерминации пола была установлена при анализе братьев XX с реверсией пола, о чем сообщил R. Parma с сотрудниками в 2006 г. Ген картирован в хромосоме 1 (p34.3) и является членом небольшого семейства R-spondin белков. Создание модели на мыши с геном *Rspo1* показало его роль в формировании женских гонад. *Rspo1* мыши активирует сигнальный путь β-катенина, который необходим для дифференциации соматических клеток самки и вступления зародышевых клеток в мейоз.

Ген *WNT4* локализован в хромосоме 1 (p36.23-p35.1) и наряду с *DAX1* определяет развитие гонад по женскому типу. Этот ген экспрессируется в гонадах эмбрионов мышей обоих полов до 11,5-го дня развития, после чего экспрессия у самцов прекращается. Так как в этот же временной период появляется экспрессия *SRY*, то можно предположить, что этот ген подавляет активность *WNT4*. При мутациях в этом гене происходит маскулинизация эмбрионов мышей с XX-кариотипом – яичники по морфологическому строению становятся подобными семенникам, Мюллеровы каналы дегенерируют, и развиваются клетки Лейдига, производящие тестостерон. У индивидуума с XY-кариотипом и дупликацией *WNT4* наблюдалась сверхэкспрессия гена *DAX1* и соответственно развитие по женскому типу. Из этого следует, что *WNT4* позитивно регулирует ген *DAX1*.

Ген *FOXL2 (Forkhead box)* картирован в хромосоме 3 (3q23) и принадлежит к семейству FOX-транскрипционных факторов. FOX-белки содержат ДНК-связывающий домен (fork head domain), известный также под названием летящая спираль («winged helix»). Функция этого белка связана с регуляцией направления развития клеток в течение эмбриогенеза. Одна из мутаций гена

геновые рецепторы. В отсутствии рецепторов развиваются различные варианты синдрома нечувствительности к андрогенам (AIS).

Ядерный рецептор стероидных гормонов, кодируемый геном *AR (Androgen receptor)*, который локализован в Х-хромосоме (q 11.2-12), регулирует вторичную дифференциацию и проявление мужского фенотипа. AR белок включает три домена – амино-терминальный (NTD), ДНК-связывающий (DBD) и лиганд-связывающий (LBD). Мутации по этому гену приводят к серьезным нарушениям. Мутации в генах, кодирующих рецепторы андрогенов и фермент 5α–редуктазу, приводят к нарушениям полового развития, объединенных в группу мужского псевдогермафродитизма, т.е. врожденной патологии полового развития, при которых генетический, гонадный и гормональный пол мужские, но половые органы имеют черты незавершенной маскулинизации, либо недоразвитый женский тип строения.

Женские половые гормоны. Половые гормоны (эстрадиол, эстриол, эстрон), вырабатываемые яичниками, оказывают влияние на формирование организма по женскому типу, рост и развитие женских половых органов и вторичных женских половых признаков (рис. 32).

Рецепторы эстрогенов ERα и ERβ – продукты различных генов. Ген *ERα* локализован в хромосоме 6 (q25.1), а *ERβ* – в хромосоме 14 (q22–24). Биологическое действие эстрогенов опосредовано связыванием с одним из двух рецепторов, которые действуют антагонистически. Оба рецептора имеют различную селективность в связывании молекул трех эстрогенов. Так, ERα связывает преимущественно эстрон, ERβ – эстриол, и оба могут связывать эстрадиол.

Таким образом, для окончательного формирования как мужских, так и женских наружных половых органов необходим нормальный уровень гормонов – андрогенов и эстрогенов соответственно, и их рецепторов.

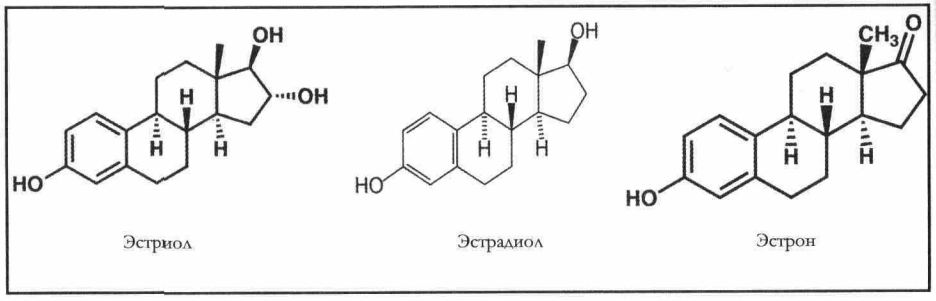


Рис. 32. Женские половые гормоны

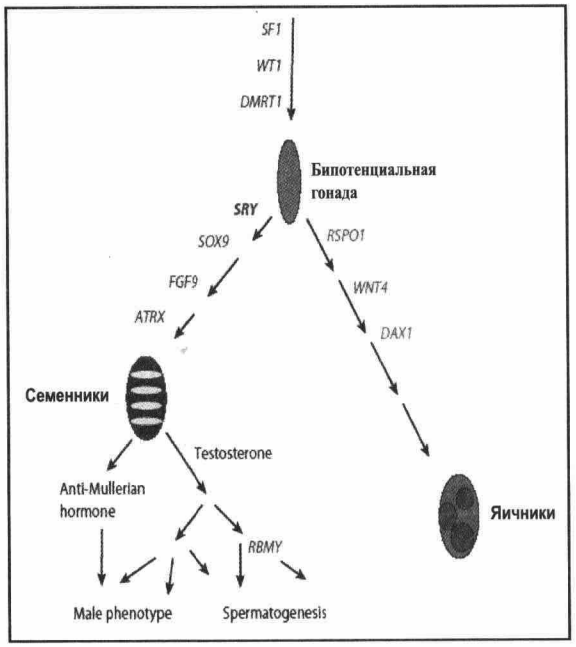


Рис. 33. Генетическая модель детерминации пола и дифференцировки пола у млекопитающих и человека [J.Graves, 2008]

В настоящее время известно более 1 тыс. генов, участвующих в развитии и функционировании репродуктивных органов млекопитающих и человека. Эти гены взаимодействуют и образуют сложную генетическую сеть. Упрощенная генетическая схема действия перечисленных в этом разделе генов представлена на рис. 33.

Функция генов *WT1, SF1, DMRT1* необходима для нормального развития гонады на бипотенциальной стадии, мутации по этим генам с неизбежностью будут являться причиной различных синдромов, как гипоплазия тестисов и даже реверсия пола. На рис. 33 приведены ключевые каскадно-экспрессирующиеся гены – *SRY, SOX9, AMH, DAX1, WNT4, RSPO1, FOXL2,* хотя их число значительно больше.

3.4. Компенсация дозы генов Х-хромосом у млекопитающих и человека

В 1949 г. при исследовании нервных клеток кошки в интерфазном ядре М.Л.Барр и Э.Бертрам обнаружили темно-окрашенные хроматиновые тельца, которые отсутствовали в клетках кота. Эти окрашенные структуры получили название телец Барра Х-хромосомы, представляющие инактивированные Х-хромосомы (рис. 34).

Их инактивация начинается в раннем эмбриогенезе в эпибласте, одна из Х-хромосом конденсируется и переходит в неактивное состояние, превращаясь в тельце Барра. Процесс инактивации Х-хромосомы называется дозовой компенсацией. Аналогичные тельца были впоследствии обнаружены

FOXL2 проявляется как аутосомно-доминантный признак, выражающийся в нарушении развития глазного века (BPES – blepharophimosis/ptosis/epicanthus inversus syndrome), а также недоразвитием яичников и бесплодием. Этот ген экспрессируется в течение всей жизни организма, поэтому сотрудники Европейской лаборатории молекулярной биологии в Германии, под руководством М.Трайера (Mathias Treier), решили проверить, что произойдет, если этот ген удалить у взрослых мышей с нормально сформированными яичниками с помощью сайт-специфической рекомбинации. Для этого были созданы линии мышей с Cre-LoxP сайтами: линия самок (*Foxl2*$^{fl/fl}$) имела ген *Foxl2*, фланкированный LoxP-сайтами; линия самцов (*R26CreERT2*) с геном рекомбиназы (*Cre*), слитым с геном рецептора эстрогена (*ERT2*), чувствительного к тамоксифену, который является нестероидным антиэстрогенным эстрогеном. Активность рекомбиназы можно было регулировать введением тамоксифена. У 8-недельных мышей XX после действия тамоксифена происходило удаление гена *Foxl2* и уже через 3 дня наблюдали трансдифференцировку гранулезных клеток Теки в клетки Сертоли и клетки Лейдига. Трансдифференцировка была подтверждена и на молекулярном уровне. Перепрограммированные клетки секретировали тестестерон на таком же уровне, как и у самцов XY. Планируя этот эксперимент Трайер с сотрудниками ожидали, что удаление гена *Foxl2* приведет к дегенерации ооцитов, но в целом организм сохранит все физиологические признаки женского пола. Вместо этого у животных произошла полная трансдифференцировка яичников в семенники. Экспрессия гена *Foxl2* в течение всей жизни свидетельствует о его необходимости для предотвращения трансдифференцировки яичников в семенники у взрослых мышей. Как было показано выше основную роль в дифференцировке гранулезных клеток в клетки Сертоли и Лейдига принадлежит гену *SOX9*. Результаты, полученные по установлению функции гена *FOXL2* и его взаимодействия с другими генами, дают основание для расширения представлений о функциях и роли гена *SOX9* в процессе дифференцировки пола у млекопитающих (рис. 30).

Факторы детерминации пола играют важную роль в реализации программы репродукции, однако не менее значимы и механизмы дифференцировки пола, о чем свидетельствует их консервативность и широкое проявление, от дрозофилы до человека. У позвоночных установлен общий набор транскрипционных факторов, вовлеченных в регуляцию дифференцировки репродуктивных органов. Это гены *DAX1, DMRT1, SF1, SOX9, FOXL2* и *WT1*, а также гены сигнальных молекул *FGF9* и *WNT4*. Молекулярные механизмы их взаимодействия и их место в цепи последовательных событий по реализации про-

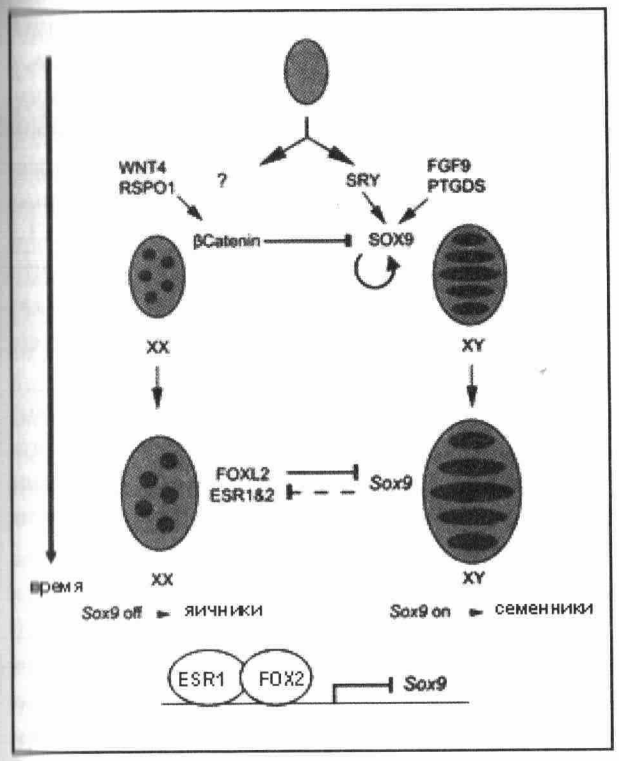


Рис. 30. Модель участия гена *SOX9* в регуляции развития типа гонад у млекопитающих. В фазе детерминации пола ген *SRY* регулирует ген *SOX9*, дальнейшая активность и поддержание экспрессия которого позитивно саморегулируется с участием генов *FGF9* и *prostaglandin D2* (*PTGDS*). В то же время при развитии женских гонад экспрессия *SOX9* супрессируется стабильным действием продукта гена β-катенина (*CTNNB1*), позитивно регулируемого генами *WNT4* и *RSPO1*. После рождения активность β-катенина снижается, но транскрипционная супрессия *SOX9* осуществляется уже другими генами *FOXL2* и *ESR1/2* на протяжении всего репродуктивного периода жизни женских особей [N.H.Uhlenhaut et al., 2009]

граммы дифференцировки достаточно вариабельны и еще до конца не совсем понятны. Тем не менее, для млекопитающих достаточно полно исследованы основные этапы формирования гонад и контролирующие их гены.

Пол особи определяется в период раннего развития гонад. Ключевым является ген *SRY*, который непосредственно регулирует экспрессию *SOX9*, активность или репрессия которого является решающей в направлении дифференцировки соматических гранулезных клеток: активность определяет формирование клеток Сертоли и Лейдига и, соответственно, формирование семенников, а репрессия – клеток Теки и развитие яичников. У мышей ген *Sry* экспресируется только 2 дня после начала дифференцировки (стадия E10.5) и сразу же активирует экспрессию гена *Sox9*. Механизм позитивной саморегуляции *Sox9* в период дифференцировки в эмбриогенезе и после рождения делают ненужной экспрессию *SRY*.

Для дифференцировки бипотенциальной гонады в женские репродуктивные органы на первом этапе необходима активность β-катенин-

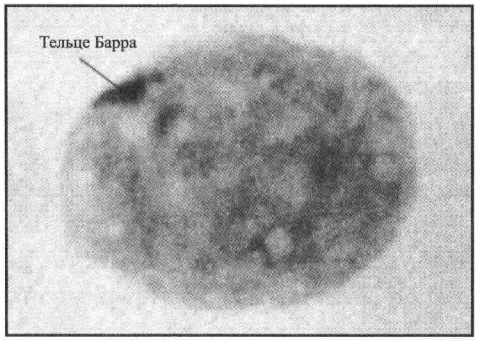


Рис. 34. Клеточное ядро кошки с тельцем Барра. Конденсированная Х-хромосома на фоне деконденсированных хромосом в интерфазе

в клетках слизистой оболочки полости рта женщин, но их не было у мужчин. Впоследствии было показано, что тельца Барра – это инактивированная Х-хромосома особей женского пола у всех млекопитающих. Достаточно простой метод идентификации телец Барра позволил использовать в качестве экспресс-метода для выявления отсутствия или наличия лишней Х-хромосомы. У женщин с синдромом Шерешевского–Тернера (45, Х) тельца Барра не выявляются, а при синдроме Клайфельтера (47, XXY) у мужчин обнаруживается одно, а при синдроме (47, XXX) – два тельца Барра. Имеется два вида инактивации – специфическая, когда инактивируется определенная Х-хромосома, например, только отцовская Х-хромосома у сумчатых (кенгуру), и случайная, когда выбор того, какая Х-хромосома будет инактивирована, происходит случайно (плацентарные млекопитающие).

В ходе онтогенеза у особей женского пола могут инактивироваться как материнские, так и отцовские Х-хромосомы, что приводит к мозаичному проявлению определенных признаков, наследующихся сцепленно с полом. Так, у кошек ген оранжевой окраски *О* локализован в Х-хромосоме. У гетерозиготной кошки *О/о* проявляется «черепаховая» окраска – одни участки имеют рыжую, а другие белую окраску. У нормальных котов окраска может быть чисто рыжей или другого цвета (рис. 35).

У многих организмов эволюция половых хромосом сопровождалась эволюцией механизмов, уравнивающих дозу Х-сцепленных генов между мужским (XY) и женским (XX) полом. Дозовая компенсация у насекомых (дрозофилы) достигается у самцов путем двукратного увеличения транскрипции генов единственной Х-хромосомы. У нематод дозовая компенсация происходит у гермафродитных особей путем избирательного уменьшения транскрипции обеих Х-хромосом. У самок млекопитающих компенсация дозы генов возникает в результате глобальной инактивации одной из Х-хромосом в клетках с XX-хромосомной конституцией, которая выключает транскрипцию большинства генов, локализованных на инактивированной Х-хромосоме.

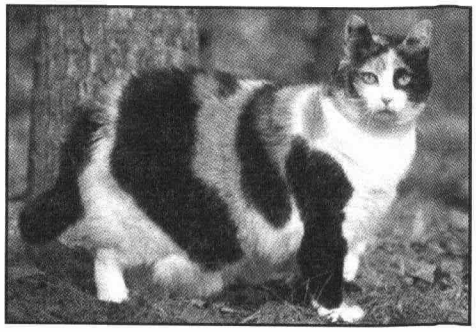


Рис. 34. Трехцветная окраска шерсти у кошки, гетерозиготной по сцепленному с Х-хромосомой гену окраски *О*

Утрата генов Y-хромосомы у многих организмов сопровождалась коэволюцией механизмов, уравнивающих дозу Х-сцепленных генов между мужским (XY) и женским (XX) полом. У многих организмов дозовая компенсация осуществляется через контроль структуры хроматина. У млекопитающих и человека это достигается на основе глобальной инактивацией одной из Х-хромосом за счет метилирования цитозиновых оснований с последующим выключением транскрипции большинства генов инактивированной Х-хромосомы.

1. Какие общие принципы детерминации и дифференцировки пола можно выделить у многоклеточных организмов?
2. В чем заключается суть балансовой теории определения пола у дрозофилы?
3. Балансовый механизм определения пола у нематоды и его принципиальное отличие от такового у дрозофилы.
4. Роль активной Y-хромосомы в детерминации и дифференцировке пола у млекопитающих и человека.
5. В чем заключается суть генетического и гормонального определения пола у млекопитающих и человека?
6. Мутации каких генов могут приводить к реверсии пола у особей XX человека?
7. Мутации каких генов могут приводить к реверсии пола у особей XY человека, у дрозофилы?
8. Укажите основные гены, участвующие в развитии мужских гонад у человека.
9. Укажите основные гены, участвующие в развитии женских гонад у человека.
10. Какие гены с консервативной функцией в развитии пола можно выделить у позвоночных?

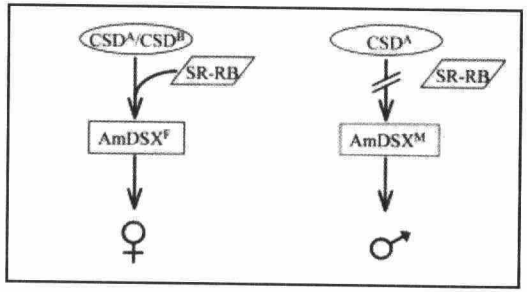


Рис. 36. Схема детерминации пола у *Apis mellifera* [E.Wilgenburg et al., 2006]

развиваются в самцов, гетерозиготы – в самок. Гемизиготные самцы фертильны, а гомозиготы стерильны.

Ген *CSD* кодирует белок SR, богатый аргинином и серином, и имеет структурное сходство с геном *TRA Diptera*. Функция *CSD* связана с образованием комплекса с белками SR-типа, который запускает альтернативный сплайсинг гена *AmDSX* (*Apis mellifera doublesex*) с образованием двух транскриптов – мРНК $AmDSX^F$, определяющих развитие самок и мРНК $AmDSX^M$, который определяет развитие самцов. Ген *DSX* (*doublesex*) – переключатель дифференцировки половых репродуктивных органов, контролирует белок, содержащий DM-домен (рис. 36).

Ген *DSX* также является регулятором пола у дрозофилы. Гомологи этого гена выполняют сходную функцию у нематоды (см. гл. 3). Оплодотворенные яйцеклетки превращаются в матку лишь в случае, когда личинки выкармливаются молочком, личинки не получающие маточного молочка развиваются в рабочих пчел.

1. Сравните типы определения пола у кур и дрозофилы.
2. Сравните типы определения пола у млекопитающих и рыб.
3. В чем разница определения пола у самцов и самок пчелы?
4. На каком этапе индивидуального развития может происходить гормональное переопределение пола у млекопитающих и рыб?
5. Имеются ли гомологи пол-детерминирующих генов рыб у млекопитающих и других организмов?

Определение пола у растений

Глава 5

Половой диморфизм у низших и цветковых растений, половые типы. Половые хромосомы и генетический контроль детерминации и дифференцировки развития обоеполого, мужского и женского цветка у цветковых растений

В царстве растений существует огромное разнообразие способов размножения по сравнению с животными, что объясняется их прикрепленным образом жизни и необходимостью обеспечения выживаемости вида в конкретных природных условиях. Это достигается наличием различных форм и сочетаний полового и бесполого размножения (см. гл. 1). Физически разделенные мужские и женские репродуктивные структуры растений, производящих гаметы, формируются в результате процессов детерминации и дифференцировки пола, который контролируется многими генами. У покрытосеменных существует три типа цветков – мужские, женские и гермафродитные. В природе обнаружены их различные сочетания как у однодомных, двудомных и гермафродитных растений, а также в полигамных популяциях (рис. 37).

У низших растений, не образующих цветки (гомоспоричные), половой фенотип проявляется в гаметофитном поколении с образованием гаметангиев, производящих яйцеклетки и спермии.

Половой диморфизм у растений может определяться различными факторами – от половых хромосом как у *Marchantia polymorpha* и *Silene latifolia* до гормональной регуляции у *Zea mays* и *Cucumis sativa*. В последние годы достигнут существенный прогресс в раскрытии генетического контроля детерминации и дифференцировки пола в различных таксономических группах растений, определены многие гены, участвующие в реализации специфических механизмов по формированию половых фенотипов растений, некоторые из них уже клонированы.

Глава 4 Многообразие типов определения пола

Многообразие форм и механизмов определения пола в царстве животных (птицы, рыбы, пчелы). Механизмы переопределения и регуляции пола. Практическое значение изменения пола в сельском хозяйстве и рыбоводстве

4.1. Определение пола у рыб

Механизмы определения пола у рыб поливариантны. Видный специалист в области генетики рыб В.С.Кирпичников (1979, 1987) в монографии «Генетические основы селекции рыб» дал достаточно полную, эволюционно осмысленную картину определения пола у рыб на 70-е годы XX в.

При наличии гетероморфных хромосом у рыб было выявлено несколько систем с гетерогаметным мужским и женским полом – XX/XY, XX/X0, ZZ/ZW.

Таким образом, среди рыб мы находим истинный гермафродитизм, примитивное неустойчивое полигенное определение пола, наконец, хромосомное определение пола с разной степенью обособления половых хромосом. Преобладают виды с мало различающимися половыми хромосомами, возможны оба типа гетерогаметности – мужская и женская. По сравнению с высшими позвоночными и с некоторыми беспозвоночными определение пола у рыб является, несомненно, более примитивным.

Проведенная W.Traut, H.Winking (2001) сравнительная геномная гибридизация митотических и мейотических хромосом у трех видов (данио-рерио, гуппи и пециллии) продемонстрировала основные ступени дифференцировки половых хромосом.

Многие исследователи, занимающиеся проблемами биологии развития, обратили внимание на рыб как модельную генетическую систему. Наряду с рыбкой данио-рерио (*D. rerio*), известной как модель позвоночных животных, появилась другая модель – дальневосточная медака (*O. latipes*). Известность

медаке как генетическому объекту в середине XX в. принесли опыты японского ученого T.Yamomoto (1955) по превращению пола и выявлению генов, наследующихся сцепленно с Y-хромосомой. Интерес к этим двум аквариумным рыбкам вызван тем, что в самом начале XXI в. были полностью секвенированы их геномы, клонированы десятки ключевых генов развития, что способствовало выяснению функций отдельных генов и их взаимодействия.

У маленькой аквариумной рыбки медаки был открыт ключевой полоопределяющий ген *DMRT1bY*, сцепленный с Y-хромосомой. У этой рыбки X- и Y-хромосомы морфологически не идентифицируются и различаются лишь по небольшому (258 п.н.) Y-специфическому участку, содержащему ген *DMRT1bY*, называемый также *DMY* и *DMRT1Y*. Только функциональный ген в этом участке, проявляющий самцово-специфическую экспрессию, является Y-специфической дуплицированной копией аутосомного гена *DMRT1a*, активирующего каскад детерминации/дифференциации пола у мух, червей и млекопитающих. Критическая роль этого гена была установлена при идентификации мутантных фенотипов проявлений у двух различных XY-самок: у первой, мутантный ген кодировал укороченный DMRT1Y белок, в то время как у второй мутантной особи наблюдалось полное отсутствие экспрессии этого гена.

4.2. Регуляция пола у рыб и тутового шелкопряда

Регуляция пола у рыб. Существенный сдвиг соотношения организмов в сторону одного из полов имеет как теоретическое, так и практическое значение, так как один из полов обычно более продуктивен. Методы регуляции пола применяются в зависимости от типа определения пола, биологических и хозяйственных особенностей вида. Фенотипическое переопределение пола реализуется посредством гормонов. Половые признаки также могут изменяться при пересадке половых органов от одного пола к другому. Степень фенотипических изменений пола зависит от особенностей вида и дозы введенного препарата. Однако лишь в редких случаях (у некоторых рыб и земноводных) особи с фенотипически переопределенным полом продуцируют гаметы, противоположные их генотипическому полу. В следующем поколении, если действие гормонов прекращается, снова вступает в силу генетический механизм определения пола.

Маркировка половых хромосом методом Fish-окрашивания и сигнальными генами, разделение спермиев с X- и Y-хромосомами, а также возмож-

ность экстракорпорального оплодотворения яйцеклетки одним спермием существенно расширили возможности ранней диагностики и регулирования пола у разных организмов.

Превращение пола у рыб. Гиногенез и искусственная регуляция пола. Уже давно было замечено, что самки рыбок гуппи иногда без всяких видимых причин, превращаются в самцов.

При скрещивании **превращенного** самца с нормальной самкой получили потомство, состоящее целиком из самок.

♂ XX x ♀ XX
♀XX (100% самок)

Позднее T.Yamomoto (1964) были разработаны методы искусственного изменения пола рыб под влиянием гормонов тестостерона и эстрадиола.

При добавлении гормонов в воду он добился полного превращения полов у медаки, а также были выращены самцы с хромосомами XX и самки с хромосомами XY. Благодаря этому оказалось возможным по желанию исследователя получать в потомстве одних самок или одних самцов. Кроме того, удалось превратить, используя половые гормоны, самок золотой рыбки в самцов. При скрещивании последних с нормальными самками все потомство оказалось чисто женским.

Несколько видов рыб, в том числе и серебряный карась, размножаются с помощью гиногенеза, используя самцов других видов. Спермии при гиногенезе проникают в яйцеклетку, но не принимают участия в дальнейшей судьбе зародыша, быстро растворяясь в цитоплазме яйца. Гиногенетические популяции серебряного карася представлены почти исключительно самками, так как ко всем потомкам попадают только женские хромосомы.

У некоторых видов рыб, в норме имеющих и самцов и самок, гиногенез можно вызвать искусственно, обработав спермии рентгеновскими лучами или химическими мутагенами. Таким образом были получены в массовых количествах гиногенетические зародыши у карпа, вьюна, радужной форели, пеляди, осетра, камбалы и многих других видов рыб. Эти зародыши гаплоидны, имеют один материнский набор хромосом и погибают в конце эмбрионального периода развития. Появляются и отдельные гиногенетические диплоиды, но они очень редки. Воздействуя холодом на только что осемененную икру, удалось получить большое число вполне жизнеспособных диплоидных гиногенетических мальков. Особенно успешными были опыты с вьюном и карпом. Под влиянием охлаждения у зародышей, по-видимому, сливается ядро яйцеклетки с ядром направительного тельца, и хромосомный

набор становится диплоидным. Все рыбы, полученные в результате такого диплоидного гиногенеза – самки. Искусственный диплоидный гиногенез, следовательно, является надежным способом получения чисто женского потомства.

У многих видов рыб генетический пол может быть функционально изменен под воздействием андрогенов или эстрогенов в течение определенного периода ювенильного развития. Однополая популяция, потомки которой имеют только один пол, может быть создана путем скрещивания экспериментально выведенных YY или XX самцов с нормальными самками. Это направление широко используется в аквакультуре, потому что один пол часто является ведущим для рыбопродуктивности в связи со специфическими различиями роста у самцов и самок. Однополые популяции позволяют изучать пол-специфические гены на ранних стадиях развития, когда фенотипические различия полов еще не видимы.

Гормональное превращение пола позволяет без генетического и цитогенетического анализа сравнительно легко определить тип гетерогаметности. При гомогаметности самок, после превращения их под воздействием тестостерона в самцов, их скрещивание с нормальными самками дает в потомстве одних самок. При гетерогаметности самок подобное же скрещивание сопровождается появлением в потомстве и самок, и самцов.

Схема скрещиваний гормонально измененных самок в самцов с нормальными самками рыб выглядит следующим образом:

1) ♂ XX (измен.) × ♀ XX = 100% ♀ XX (при гомогаметности самок);
2) ♂ WZ (измен.) × ♀ WZ → 25% ♂ ZZ + 50% ♀WZ + 25% ♂ WW (при гетерогаметности самок).

Регуляция пола у тутового шелкопряда (Bombyx mori). Работы Б.Л.Астаурова (1977) и В.А.Струнникова (1972) по направленному получению желательного пола у тутового шелкопряда (*Bombyx mori*) являются классическими. Управление генетическим механизмом определения пола достигнуто в экспериментах с тутовым шелкопрядом, у которого пол строго определяется сочетанием половых хромосом (ZW – ♀; ZZ – ♂). Неоплодотворенные яйца после прогрева развиваются партеногенетически за счет диплоидного ядра, не завершившего редукционного деления. Все клетки партеногенетического эмбриона сохраняют материнскую структуру, в частности и в отношении половых хромосом ZW, и, следовательно, развиваются только в самок. Б.Л.Астаурову (1977) путем воздействия ионизирующего излучения и прогрева удалось подавить в свежеотложенном осемененном яйце женское ядро и переключить

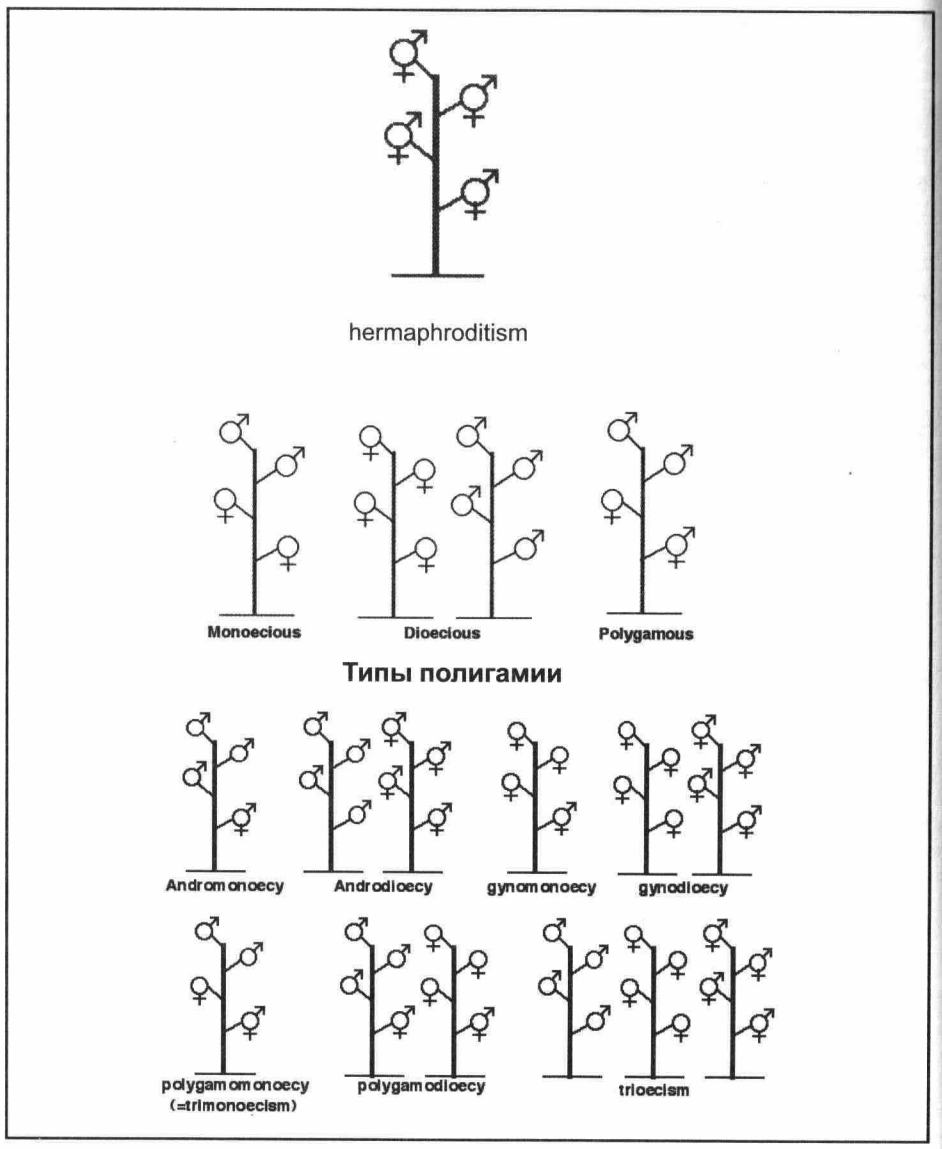


Рис. 37. Половые типы растений: (hermaphroditism) растения с настоящими обоеполыми цветками; однодомные (monoecious) – на одном растении мужские и женские цветки; двудомные (*dioecy*) – мужские и женские растения; (*androdioecy*) – мужские и гермафродитные цветки на одном растении; (*gynodioecy*) – женские и гермафродитные цветки на одном растении. Типы полигамии: (*sub-dioecy*) – популяция индивидуальных растений с обоеполыми, мужскими и женскими цветками

5.1. Половой диморфизм у мохообразных (*Bryophyta*)

Двудомные гетероталличные виды из класса Bryophyta имеют гетероморфные XY половые хромосомы, как например у печеночного мха маршанции (*M. polymorpha*). В жизненном цикле маршанции, как и у всех мхов спорофитная и гаметофитная стадия физически разделены, при этом спорофит паразитирует на гаметофите. Половой диморфизм маршанции проявляется в существовании мужского гаметофита (n = 8+Y) с мужскими половыми структурами – антеридиями (antheridium) и женского (n = 8+X) с архегониями (archegonium). Гетероморфные половые хромосомы (XY) маршанции обнаруживают удивительное сходство в структурной организации с половыми хромосомами человека. Это проявляется в небольшом размере Y-хромосомы, в которой также имеется протяженный район супрессии рекомбинации NRY или (MSY, см. гл. 3) с уникальными генами, которые специфически экспрессируются в антеридиях. В настоящее время сиквенирована только часть Y-хромосомы маршанции, которая также как и у человека показывает присутствие ампликонов с высокой частотой однородных повторяющихся последовательностей в уникальных генах локуса MSY. Наличие палиндромов в уникальных генах Y-хромосомы человека обеспечивает прохождение генной конверсии между Y-Y сестринскими хроматидами (см. гл. 2). Такое сходство в геномной организации Y-хромосом совершенно разных организмов может свидетельствовать о консервативности механизма генной конверсии в сохранении уникальных последовательностей и генов в Y-хромосомах.

Вместе с тем существует и принципиальное отличие в функциональной организации половых хромосом маршанции от хромосом человека. Это связано с тем, что если у человека происходит рекомбинация между X-X-хромосомами, то у маршанции спорофит всегда только X-Y и рекомбинация не происходит. В сохранении целостности X-хромосом вероятно должны участвовать какие-то другие механизмы, чем гомологичная рекомбинация, которая имеет место у человека и млекопитающих. Несомненно, что в этом отношении маршанция представляет исключительный интерес для изучения молекулярных механизмов эволюционирования половых хромосом.

5.2. Половой диморфизм и половые типы у цветковых растений (*Angiospermae*)

Репродуктивная функция цветковых растений связана с формированием специализированных структур цветка – тычинок и плодолистиков. В процес-

развитие на мужское начало. Диплоидное ядро мужской зиготы образуется путем слияния 2 мужских ядер и поэтому имеет структуру мужского пола – ZZ. Из таких зигот развиваются гусеницы всегда мужского пола. Этими методами впервые у шелкопряда решена проблема произвольной регуляции пола. У млекопитающих ученые пытаются разделить по морфологическим и физиологическим особенностям X- и Y-сперматозоиды (электрофорез, центрифугирование и др.) с целью последующего осеменения одной категорией сперматозоидов. Однако этим способом пока не удалось достоверно сместить соотношение полов.

Большое значение имеет раннее распознавание пола. Для этого под действием ионизирующего облучения у шелкопряда была получена линия с транслокацией аутосомного доминантного гена, обусловливающего темную окраску яиц, на половую W-хромосому. Те яйца, в которые попадает транслоцированная W-хромосома с пересаженным доминантным геном, приобретают темный цвет и развиваются в самок, в то время как яйца мужского пола остаются непигментированными. Фотоэлектрические автоматы с большой скоростью разделяют разноокрашенные яйца по полу. Выведенные В.А.Струнниковым таким способом меченые по полу линии шелкопряда находят практическое применение в шелководстве.

4.3. Определение пола у птиц

У птиц гетерогаметный женский пол с хромосомами ZW и гомогаметный мужской – ZZ. Хромосомы имеют псевдоаутосомный район PAR с облигатным кроссинговером в мейозе и район запрета рекомбинации NRY, который включает почти всю W хромосому. Длительное время механизм детерминации пола у птиц оставался неразрешенным и роль Z и W хромосом еще окончательно не выяснена. Как было показано в гл. 1, роль половых хромосом выявляется при анализе анеуплоидов, как это было установлено у дрозофилы и млекопитающих. Однако у птиц анеуплоиды по половым хромосомам (ZZW или ZO) исключительно редки и, как правило, являются леталями. Поэтому полоопределяющая роль Z- и W-хромосом была выяснена с использованием молекулярно-генетических методов. Известные гены – регуляторы пола животных – у нематоды *MAB-3* (*male abnormal*) и *DSX* (*doublesex*) у дрозофилы имеют консервативный домен DM. Оба гена кодируют белки, участвующие в дифференцировке пола. Недавно установлено, что белки с DM доменом также вовлечены в половую дифференцировку у позвоночных, включая птиц и рыб. У кур (*Gallus gallus*) установлен гомолог этих генов

DMRT1 (*doublesex-mab-3*), который картирован в Z-хромосоме и отсутствует в W-хромосоме. Ген *DMRT1* экспрессируется в генитальном валике и Вольфовых протоках, а у взрослых птиц – в семенниках. С W-хромосомой сцеплен ген *PKCIW*, кодирующий ингибитор С-протеинкиназы, который экспрессируется в генитальном валике перед дифференцировкой гонад и затем у взрослых самок. Эти 2 гена-кандидата рассматривались как главные претенденты на роль детерминирующего фактора в определении пола у птиц.

В 2009 г. появилось сообщение о результатах экспериментов по нокаутированию гена *DMRT1* с помощью техники РНК-интерференции, которые были проведены К.Смитом в Австралии. В качестве вектора был использован птичий ретровирус с репортерным геном *GFP* (зеленый флуоресцирующий белок). Среди 550 инъецированных яиц только 24% показали флуоресценцию белка и низкий уровень экспрессии гена *DMRT1*. При последующем анализе зародышей ZZ было установлено, что там, где ген *DMRT1* действительно был выключен, гонады развивались в яичники. Эти результаты, безусловно, являются убедительным доказательством пол-детерминирующей роли *DMRT1*. Для нормального развития самцов (ZZ) необходимы две функциональные копии этого гена, а для развития самок – только одна. Такой дозо-зависимый механизм детерминации пола с участием гена *DMRT1*, консервативная функция которого связана с формированием семенников у животных различных таксономических групп, проливает свет и со всей очевидностью позволяет объяснить гетерогаметность женского пола у птиц.

До настоящего времени еще не был решен вопрос о наличии у птиц компенсации генов Z-хромосомы. На Z-хромосоме уже картировано более 800 генов, 4 из которых представлены на W-хромососоме. Анализ экспрессии генов Z-хромосом у кур и петухов методом ПЦР в реальном времени, а также FISH позволили высказать предположение о компенсации только некоторых генов на уровне транскрипции.

4.4. Определение пола у пчел (*Apis mellifera*)

В 1845 г. немецкий пчеловод-любитель предположил, что самки развиваются из оплодотворенных яиц, а самцы – из неоплодотворенных. Впоследствии это предположение было подтверждено. Сейчас известно, что гаплодиплоидия как система полоопределения является общей для всех *Hymenoptera*. Пол пчелы (*Apis mellifera*) контролируется локусом *CSD* (*complementary sex determination locus*), который был идентифицирован недавно. Различное сочетание аллелей одного гена обусловливает разный пол: гомо- и гемизиготы

се эволюции у цветковых растений выработались наследственно устойчивые морфо-физиологические различия, связанные с дифференциацией пола особей, способствующие успеху перекрестного опыления и расширению ареалов видов. Половой тип зависит от генетически-детерминированных механизмов флорального развития, которые определяют направление дифференцировки мужских, женских или обоеполых цветков. Примерно 90% цветковых растений являются гермафродитными (*Hermaphroditic*). Половой диморфизм проявляется в физическом разделении мужских и женских цветков: *Monoecious* – находящихся на одном растении, *Dioecious* – на разных растениях. Двудомность является крайним случаем проявления самонесовместимости и встречается примерно в 6% видов цветковых растений, которые охватывают 75% семейств. Такое широкое распространение двудомности указывает на их независимое и многократное происхождение от видов с обоеполыми цветками.

Помимо трех основных половых типов, у растений существуют полигамные системы: *gynodioecy* – женские и гермафродитные растения, *androdioecy* – мужские и гермафродитные растения, *sub-dioecy* – обоеполые, мужские и женские цветки (см. рис. 37).

Двудомность часто коррелирует с присутствием половых хромосом, причем хорошо выявляемые гетероморфные половые хромосомы обнаружены не более чем в 10 видах растений, среди них щавель (*R. acetosa*) и смолевка обыкновенная (*S. latifolia*). Гетероморфность половых хромосом обеспечивает первичное соотношение 1:1 мужских и женских особей, которое в дальнейшем меняется и определяется жизнеспособностью, продолжительностью жизни и сроками цветения растений. У остальной части растений половой диморфизм поддерживается гомоморфными примитивными половыми хромосомами, имеющими пол-специфические аллели, как например, у бешеного огурца (*E. elaterium*) и папайи (*C. papaya*) (табл. 5).

Первичное соотношение полов в популяциях у таких видов определяется числом аллелей и подчиняется менделевским закономерностям.

Формирование однополого цветка у двудомных и однодомных растений включает гермафродитную стадию с последующим включением программы специфической дифференцировки мужских и женских репродуктивных органов. Такой характер онтогенетического развития свидетельствует о происхождении растений с однополыми цветками из гермафродитных. Поэтому генетический контроль флорального развития обоеполого цветка является базисом для раскрытия механизмов формирования однополого цветка как у двудомных, так у однодомных растений.

Таблица 5

Половые хромосомы растений

Вид	Женские половые хромосомы	Мужские половые хромосомы	Механизм детерминации пола
Гетероморфные половые хромосомы			
Marchantia polymorpha	XX	XY	XY
Canabis sativa	XX	XY	X/A
Humulus lupulus	XX	XY	X/A
H.japonicus	XX	XY	X/A
Silene latifolia	XX	XY	XY
Rumex angiocarpus	XX	XY	----
R.acetosa	XX	XY1Y2	X/A
R.hastatulus	XX	XY или XY1Y2	X/A
Гомоморфные половые хромосомы			
Actinidia chinensis		Гетерозиготы	Пол-детерминирующие аллели или локусы половых хромосом
Asparagus officinalis		Гетерозиготы	
Carica papaya		Гетерозиготы	
Spinacia oleracea		Гетерозиготы	
Brionia multiflora		Гетерозиготы	
Ecballium elaterium		Гетерозиготы	
Dioscorea tokoro		Гетерозиготы	
Fragaria specias	Гетерозиготы		
Populus alba	Гетерозиготы		

Примечание. X/A – балансовый механизм полоопределения; XY – активная Y-хромомосома.

5.3. Генетический контроль флорального развития обоеполого цветка *Arabidopsis thaliana*

Модельный генетический объект резуховидки Таля (*A. thaliana*) называют ботанической дрозофилой, и это название оправдало себя, так как короткий жизненный цикл, высокая плодовитость, небольшой геном, полностью сиквенированный в 2000 г., сделали его незаменимым объектом в генетике растений. Следует подчеркнуть, что основной вклад в развитие представлений о генетическом контроле формирования настоящего цветка был сделан в основном на *A.thaliana*.

Все известное разнообразие цветков у покрытосеменных растений можно свести к многочисленным вариациям одного и того же плана строения,

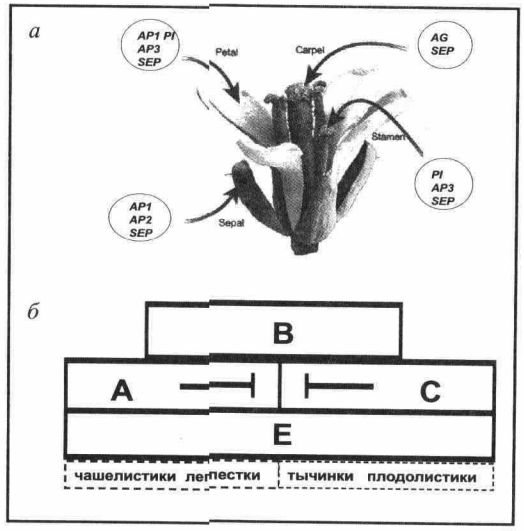


Рис. 38. а – ключевые гены флорального развития по ABCE модели; *б* – схема взаимодействия генов с функцией A, B, C и E

включающего элементы четырех типов: чашелистики, лепестки, тычинки и плодолистики, которые расположены в виде четырех концентрических кругов. *Первый* (т.е. наружный) круг представлен чашелистиками, *второй* – лепестками, *третий* – тычинками и, наконец, *четвертый*, внутренний – плодолистиками. Развитие цветка является сложным многоступенчатым процессом, в котором каждый из этапов контролируется определенными генами, мутации которых приводят к нарушению развития и появлению аномальных цветков. Благодаря таким мутантам были выявлены ключевые гены, определяющие судьбу флоральных органов настоящего цветка, которые представлены тремя условными классами – A, B и C, поэтому существующую модель развития цветка часто называют **ABC-моделью,** основные принципы которой были сформулированы Е.Коеном и Е.Миеровицем (1991). Гены с функциями этих классов кодируют транскрипционные факторы, содержащие ДНК-связывающий MADS-бокс домен, и им принадлежит ключевая роль в переходе от вегетативного развития к генеративному, а также в детерминации и типе флоральных органов цветка. У арабидопсис к функции **A** относятся гены *APETALA2, (AP2)* и *APETALA1(AP1),* в зоне экспрессии которых развиваются чашелистики и лепестки (при мутации лепестки исчезают, что и послужило поводом дать название гену: *apetala* – безлепестковый). Развитие репродуктивных органов обеспечивают гены **B** и **C** классов. Гены *APETALA3* (*AP3*) и *PISTILLATA* (*PI*) *A.thaliana* с функцией **B** экспрессируются в зоне, из которой возникают лепестки и тычинки, их продукты образуют гетеродимер, который способен связываться с промоторными участками ДНК. У мутантных растений *ap3/ap3* или *pi/pi* лепестки исчезают или превращаются в органы, напоминающие чашелистики, а тычинки приобретают черты пестиков. Ген **C**-класса *AGAMOUS* (*AG*), который также является MADS-бокс транскрипционным фактором, кон-

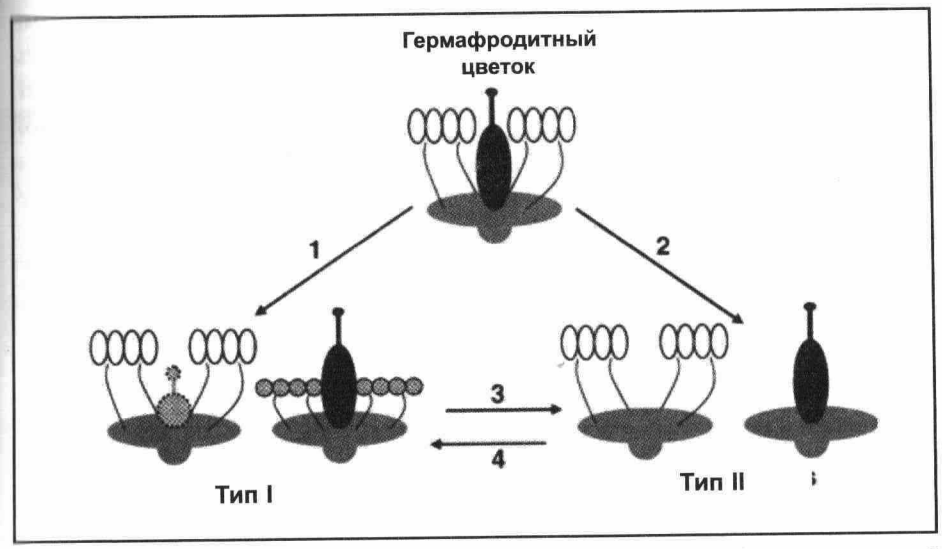


Рис. 39. Схема двух типов однополых цветков, происходящих из гермафродитного цветка: I тип – частичная элиминация пестика или тычинок; II тип – полная элиминация примордиев противоположного пола

тролирует развитие тычинок и плодолистиков. У мутантных растений *ag/ag* тычинки замещаются на лепестки, плодолистики – на чашелистики и далее процесс образования цветка повторяется несколько раз (рис. 38).

Недавно было показано, что активность генов **B**- и **C**-классов должна поддерживаться нормальным уровнем экспрессии еще трех тесно-сцепленных MADS-бокс генов – *SEPALLATA 1, 2, 3* (*SEP 1, 2, 3*). Это следовало из того факта, что у растений тройных мутантов *sep1sep2 sep3/sep1sep2sep3* образуются цветки, в которых все органы развиваются как чашелистики, поэтому **ABC**-модель была дополнена новым **E** классом с генами *SEP 1, 2, 3*, что позволяет объяснить активность как индивидуальных, так и всех взаимодействующих генов.

Таким образом, можно постулировать, что гены с **A** + **B** + **E** функцией необходимы для развития лепестков, **B** + **C** + **E** функции для тычинок и **C** + **E** функции для плодолистиков. Ортологи генов **ABC**-классов обнаружены у большинства цветковых и голосеменных растений, что свидетельствует об их высокой консервативности в процессе эволюции. В настоящее время **ABC**-модель нашла подтверждение для многих видов цветковых растений, включая львиный зев (*A. majus*), петунию (*P. hybrida*), табак (*N. tabacum*), огурец (*C. sativus*) и кукурузу (*Z. mays*) – рис. 39.

У двудомных и однодомных растений с раздельнополыми цветками функция MADS-box генов B- и C-классов также связана с формированием тычинок и плодолистиков. Однако для развития мужского или женского типа цветка должны включаться специфические механизмы по селективной регуляции клеточных делений или абортивности репродуктивных органов противоположного пола. Такое предположение основывается на факте существования двух типов однополых цветков (см. рис. 39). В цветках I типа могут сохраняться рудименты структур противоположного пола, в цветках II типа рудименты полностью отсутствуют как результат запрета развития примордиев противоположного пола.

5.4. Генетический контроль детерминации и дифференцировки однополого цветка у двудомных растений (*Silene latifolia, Rumex acetosa*)

Двудомные произошли от обоеполых растений и сохранили ту же детерминированнность флорального развития, которое обеспечивается гомеозисными MADS-box генами ABC-классов. В развитии однополого цветка двудомных растений присутствует бисексуальная стадия, т.е. имеются примордиальные ткани тычинок и плодолистиков, пролиферация клеток которых контролируется генами B- и C-классов. Включение программы дифференцировки ранней бисексуальной флоральной меристемы обеспечивает развитие однополого цветка – пестичного или тычиночного.

Наличие гетероморфных половых хромосом у некоторых двудомных растений (см. табл. 4) несомненно, должно быть связано с механизмом полоопределения. Действительно, было установлено, что в одних случаях, как у щавеля *R. acetosa,* пол цветка может определяться соотношением числа X-хромосом к числу наборов аутосом (механизм X/A), который оказался аналогичным механизму детерминации пола у *Drosophila.* При половом индексе 1 и выше растения образуют женские цветки, при значении индекса 0.5 (12A + XY1Y2) и ниже – мужские. Обоеполые цветки могут формироваться у три- и тетраплоидов по аутосомам, растения с набором из 19 аутосом, включающие экстракопию хромосомы 2 и XXY1Y2 имеют женские цветки. Растения с промежуточным значением полового индекса 0,75 [полиплоиды ($4n$ = 24 + XXX) и анеуплоиды] образовывали гермафродитные и интерсексуальные цветки, т.е. с вариациями в развитии гинецея и тычинок. Высокая вариабельность в развитии гинецея у интерсексов, вероятно, отражает механизм дифференцировки репродуктивных органов. Распределение различных флоральных фенотипов на одном растении показывает, что каждый индивидуальный цветок полоопределяется отдельно и пол каждого цветка не зависит от его положения на соцветии.

Развитие гинецея у мутантов-интерсексов *Rumex* напоминает фенотип мутантных цветков по гену *ETTIN Arabidopsis*, проявление которого связано с изменением градиента ауксина. Такое сравнение позволило предположить, что ауксиновый градиент в цветках *Rumex* действует только в границах 4-го флорального круга и отражает взаимодействие генов, одни из которых имеют C-функцию. Автономный характер проявления пола каждого цветка у интерсексов щавеля напоминает аналогичный механизм у дрозофилы, у которой каждая соматическая клетка также определяется самостоятельно (см. гл. 3).

Механизм полоопределения с активной Y-хромосомой (XY), преобладающий у животных, обнаружен у смолевки обыкновенной (*S.latifolia*) при анализе делеционных мутантов по Y-хромосоме, полученных с помощью γ- и X-лучами. Цветки таких мутантов были двух типов – бисексуальные (*bsx*) и асексульные (*asx*). Несколько так называемых асексуальных «мутантов» (*asx1*) были с зачаточными тычинками, (*asx2*) – полностью стерильные.

По результатам цитогенетического анализа мутантов с нарушениями развития тычинок и плодолистиков были определены три локуса с основными функциями Y-хромосомы:

- супрессии развития пестиков – GSF *(gynoecium-suppressing function)*;
- инициации развития тычинок – SPF1 *(stamen promotion function)*;
- позднего развития тычинок – SPF2 *(stamen promotion function late)*.

Функция GSF сцеплена с дистальным, а SPF1 – с проксимальным районом **p**-плеча метацентрической Y-хромосомы. Локус SPF2, по последним данным, расположен в **q**-плече Y-хромосомы (рис. 40).

Полоопределяющая роль Y-хромосомы была также подтверждена опытами с облучением пыльцы и последующим опылением женских растений, в потомстве которых были выделены гермафродитные растения, которые могли возникнуть только в результате опыления пыльцой с делецией или мутациями по GSF-локусу.

Ранняя флоральная меристема *Silene* сходна с гермафродитными видами и содержит четыре типа органов примордиев: (1) – чашелистики, (2) – лепестки, (3) – тычинки, (4) – плодолистики (см. рис. 40, *б*). Последующее развитие флоральной меристемы зависит от присутствия Y-хромосомы и тех генов, которые включают программу дифференцировки мужских и женских репродуктивных органов в однополых цветках, и которое осу-

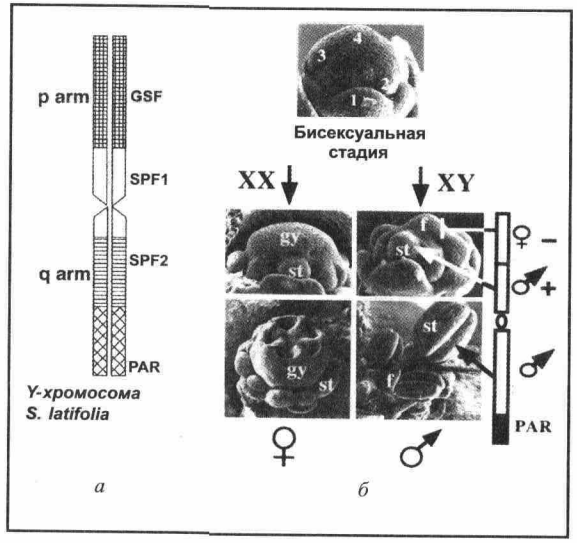


Рис. 40. *а)* функциональные районы Y-хромосомы *Silene*; *б)* флоральная меристема *Silene*: XX-гинецея (gy), XY-тычинок (st) [Farbos I. et al., 1999]

ществляется на основе запрета развития примордиев противоположного пола (I тип). В мужских цветках примордии гинецея в четвертом круге супрессированы и представляют рудименты; напротив, в женских цветках рудиментами являются тычинки. Такие противоположные процессы в регуляции дифференцировки репродуктивных органов происходят за счет подавления или активации деления клеток примордиев плодолистиков и тычинок.

Стратегия поиска генов и выяснение молекулярно-генетических механизмов детерминации и дифференцировки пола цветка *S. latifolia* основывалась на трех подходах:

а) выявление генов, сцепленных с половыми хромосомами;

б) по экспрессии в андроцее;

в) по гомологии к MADS-box генам, выполняющие функцию B и C.

Общие закономерности, которые были установлены в результате сравнительного анализа по локализации ключевых пол-детерминирующих генов в Y-хромосомах при системе полоопределения X/Y у животных и растений (см. гл. 3), дают веские основания предполагать, что это должен быть пограничный локус PAR/NRY в Y-хромосоме *S. latifolia*. Среди генов, которые были определены на основе вышеуказанных методических подходов, таким геном-кандидатом можно считать дуплицированный на Y-хромосоме ген *SlAP3Y* (гомолог аутосомного гена *SlAP3*). Однако этот ген не показал специфической экспрессии в мужских цветках. Специфическую экспрессию в мужских цветках показали гены–регуляторы клеточных делений *SlCycA1* и *SlH4*. Известно, что пролиферация клеток контролируется высококонсервативными молекулами циклинов. У смолевки методом *in situ* гибридизацией было показано, что в третьем и четвертом флоральных кругах мужских и женских цве-

точных почек наблюдается пол-специфическая активность экспрессии генов – циклина A *CycA1* и гистона *H4*, которые являются маркерами S и G2 фаз клеточного цикла. К числу генов, участвующих в дифференцировке цветка, был отнесен также ген *SlSUP*, по последним данным, он входит в семейство *SUPERMAN–like* генов. Известно, что ген *SUPERMAN Arabidopsis* контролирует баланс активности клеточных делений в третьем и четвертом флоральных кругах. У смолевки ген *SlSUP* экспрессировался исключительно только в женских цветках, в мужских цветках его транскрипт не выявлялся. Функционально *SlSUP* комплементировал нарушения у мутанта *sup/sup A. thaliana*, а его суперэкспрессия приводила к подавлению развития тычинок и лепестков. Поэтому предположили, что гомолог гена *SUP* у *S.latifolia* контролирует развитие женского/мужского цветка через контроль пролиферации клеток. Однако, несмотря на интенсивный поиск, ключевой ген Y-хромосомы, запускающий процесс формирования мужского цветка у *S. latifolia* еще не установлен. Тем не менее, со всей очевидностью следует, что гены-кандидаты, которые упоминались выше, несомненно, должны регулироваться этим, пока неизвестным пол-детерминирующим геном Y-хромосомы.

5.5. Генетический контроль детерминации и дифференцировки однополого цветка у однодомных растений (*Zea mays, Cucumis sativus*)

Большое разнообразие половых типов обнаружено среди однодомных растений, среди них важнейшие сельскохозяйственные культуры – кукуруза (*Z. mays*), а также огурец обыкновенный (*C. sativus*) из обширного семейства тыквенных.

Кукуруза (*Zea mays*) является однодольным однодомным растением с однополыми цветками. Верхушечное соцветие кукурузы (метелка) состоит из мужских цветочков, а боковые соцветия (початок) представлены женскими парными цветками. Ранняя флоральная меристема верхушечных и боковых соцветий бипотенциальна и состоит из примордиев мужских и женских репродуктивных органов, поддержание которых обеспечивается MADS-бокс генами B- и C-классов. Эти гены являются ортологами известных генов *Arabidopsis*: с B-функцией ген *Silky1*– ортолог *AP3* и ген *Zmm16* – ортолог *PI*. Функцией C обладает несколько генов-ортологов *AG* – это *ZAG1, ZAG3, ZAG4, ZAG5* (*Zea mays Agamous*). Функциональное сходство этих генов у двудольных и однодольных, несомненно, свидетельствует об их эволюционной консервативности.

тений и поддерживается генетическим факторами (GSD) и факторами окружающей среды (ESD).

У большинства видов половой диморфизм проявляется на хромосомном уровне и, как правило, связан с уменьшением одной из гомологичных хромосом, реже встречаются системы с множественными половыми хромосомами. Происхождение половых хромосом из пары аутосом за счет приобретения пол-детерминирующих аллелей и супрессии рекомбинации является общим сценарием как для животных, так и для растений. Первый шаг в этом процессе связан с появлением у так называемых прото-Y(W)-хромосом дуплицированного прото-гена. Дупликации, как правило, являются результатом перемещения транспозона с образованием псевдогена или гена с измененной функцией, что приводит к ограничению рекомбинации в этом локусе. Отсутствие рекомбинации ведет к накоплению повреждающих мутаций, расширению границ локуса NRY и эрозии Y(W)-хромосом. Супрессия рекомбинации является уникальной и специфической характеристикой половых хромосом.

В середине двадцатого века усилия генетиков были направлены на поиск тестис-детерминирующего фактора (TDF). В клетках всех млекопитающих мужского пола, включая человека, был обнаружен так называемый *H-Y*-антиген, находящийся на поверхности клеток, несущих Y-хромосому. У мышей он обнаруживается уже у эмбрионов на стадии 8 клеток. У особей женского пола *H-Y*-антиген не выявляется. Однако *H-Y*-антиген не был картирован и не мог быть признан тестис-детерминирующим фактором. Было высказано предположение, что несколько генов Y-хромосомы определяют проявление *H-Y*-антигена, единственной функцией которого считается индукция развития семенников, т.е. дифференцировка гонад.

В 90-е годы XX в. С.Г. Инге-Вечтомов (1989) писал, что прогресс в расшифровке генетических механизмов, контролирующих индивидуальное развитие, зависит от возможности использования удобных генетических моделей, а для познания процесса необходимо разложить его на элементарные признаки – фены, наследующиеся по альтернативной схеме. В качестве таких моделей генетики, эмбриологи и молекулярные биологи использовали дрозофилу, нематоду, мышь, аквариумных рыбок и даже клетки человека. Последние 20 лет благодаря применению новейших методов исследования, связанных с клонированием индивидуальных генов, были выделены и полностью секвенированы десятки генов, контролирующих сложный каскад детерминации и дифференцировки пола у различных групп организмов.

У всех животных сохранился ген *DMRT1*, его ортологи обнаружены у беспозвоночных (дрозофила и нематода), у рептилий, рыб, птиц и млекопитающих. У позвоночных присутствует ген *SOX3*, а у млекопитающих – ген *SRY*, за исключением слепушонок (Ellobius), у которых он отсутствует, и механизм детерминации пола пока не изучен.

Дальнейший прогресс в расшифровке механизмов детерминации и дифференцировки пола, несомненно, внесет огромный вклад в медицинскую практику для коррекции различных нарушений при формировании пола, а также для практического использования методов регуляции пола важнейших сельскохозяйственных культур и пород животных.

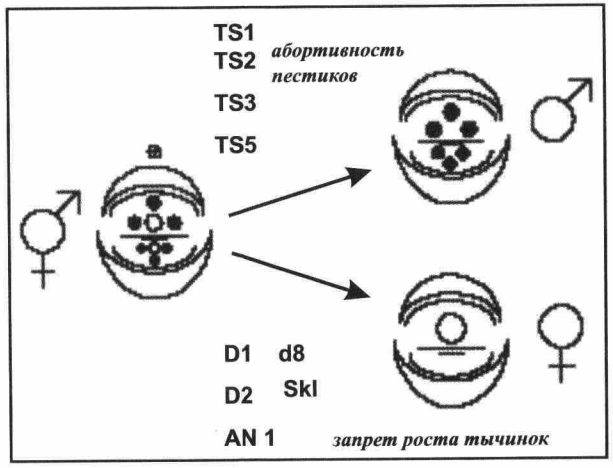


Рис. 41. Детерминация пола у кукурузы. Диаграмма формулы цветка (*слева*), бисексуальная стадия; мужской и женские цветки и гены, контролирующие их формирование (*справа*)

Однополые цветки кукурузы формируются в результате селективной элиминации тычинок в початке и элиминации пестиков в метелке. В женском соцветии (початке) при переходе от бипотенциальной стадии к стадии дифференцировки примордиальные клетки тычинок перестают делиться, а клетки пестика продолжают развитие. Очевидно, должны существовать факторы, которые запускают эти процессы. Было обнаружено два класса мутантов с маскулинизирующим действием, которое проявлялось в предотвращении абортивности тычинок в початке. Это мутанты *anther ear1* (*an1*) и карлики *dwarf* (*d1*, *d2*, *d3*, и *d5*), а также доминантная мутация *d8*, которая также приводила к карликовому фенотипу. Оказалось, что все перечисленные мутанты были ГА-дефицитными (гиберриллин-дефицитные), что подтвердилось при экзогенной обработке мутантных растений гиббериллином, так как у них восстанавливался нормальный фенотип женского соцветия (рис. 41).

В дальнейшем было установлено, что гены *D1*, *D3* и *AN1* кодируют ферменты, вовлеченные в биосинтез гиббереллина, а ген *D8* кукурузы является гомологом гена *GAL-3* (*GIBBERELLIN INSENSITIVE/REPRESSOR OF gal-3*) арабидопсис. Ген *D8* относится к семейству транскрипционных факторов и негативно регулирует чувствительность к ГА. У мутантов *d8* гиббереллиновый сигнал дерепрессирован, в результате чего проявляется доминантный фенотип. Таким образом, удалось показать, что эндогенный уровень гиббереллина выполняет феминизирующую роль в развитии пола цветка, а функция генов *AN1* и *D* связана с регуляцией абортивности тычинок и высоты растения.

В изучении генетического контроля дифференцировки мужского цветка кукурузы большую роль сыграли мутанты с нарушениями развития тычинок.

Так, мутации генов *TS1*, *TS2* (*tasselseeds – семена в метелке*) вызывают нарушения развития пыльников и приводят к формированию в метелке женских репродуктивных органов – плодолистиков. Ген *TS2* кодирует короткую цепь алкогольдегидрогеназы, которая имеет сродство со стероидами и участвует в запуске механизма апоптоза клеток пестика в верхушечном соцветии (метелке). Этот процесс запрограммированной клеточной смерти начинается с вакуолизации клеток гинецея, разрушения ядра с последующей дегенерацией и отмиранием клетки. Мутанты *ts1 ts1/* и *ts2/ts2* имеют одинаковый фенотип – в верхушечном соцветии образуются женские цветки, а двойные мутанты *ts2ts1/ts2ts1* показывают взаимодействие по типу рецессивного эпистаза (*ts1* > *Ts2*), что свидетельствует о контроле одного биохимического пути. Так как пестики женских цветков початка не подвергаются апоптозу, то, очевидно, должен существовать и механизм их защиты. Были обнаружены мутанты *skl/skl*, в цветках початка которых пестики были дегенерированы, из чего следовало, что ген *SKL* (*SILKLESS*) обеспечивает протекторную функцию. Однако протекторы растений от апоптозного действия пока не идентифицированы.

Важным инструментом в расшифровке функции генов и их роли в регуляции различных процессов развития является анализ двойных мутантов, по фенотипу которых можно получать информацию о характере взаимодействия генов. Мутанты *ts2D8/ts2D8* имели настоящие цветки, с тычинками и плодолистиками, что свидетельствовало об их аддитивном характере взаимодействия и соответственно генетическом контроле независимых биохимических путей (см. рис. 41). Таким образом, было установлено, что гены *TS2*, *TS1*, *SKL* с одной стороны и *AN1*, *D1*, *D8* – с другой, контролируют независимые биохимические пути в развитии однополого цветка кукурузы.

Другое однодомное растение – огурец обыкновенный (*C. sativus*) стал использоваться как модельная система по изучению детерминации пола у тыквенных, которые, в основном, однодомны, но могут быть двудомными и гермафродитными, что определяется их генотипом. В противоположность однодомным растениям кукурузы с верхушечным мужским цветком, у тыквенных мужские цветки располагаются в основании побега. Были установлены основные гены *F*, *A*, и *M*, определяющие половой тип растения.

Ген *F* с полудоминантным проявлением в гетерозиготе, определяет распределение женских цветков вдоль побега за счет того, что контролирует градиент феминизирующей субстанции от основания побега к верхушке.

Ген *A* эпистатичен по отношению к *F* и также необходим для формирования женского цветка.

Ген *M* обязателен для формирования мужского цветка. Из этого следует, что растения с генотипом *M-ff* будут с мужскими цветками, *M-, F-* – с женскими, *mmF* – с гермафродитными, и наконец, растения *mmff* – с мужскими и гермафродитными цветками (andromonoecious).

Установление природы феминизирующей субстанции началось с исследования экзогенного действия фитогормонов – гиббереллина и этилена и их ингибиторов. Действие гиббереллина связано, в основном, с маскулинизирующим действием (за исключением кукурузы), а этилена – с феминизирующим. Обработке растений генотипов *M-ff* и *mmff* различными вариантами сочетаний ГА и этрела (регулятор роста растений), а также ГА и ингибитора этилена ($AgNO_3$) показали, что этилен является основным гормоном, регулирующим формирование полового типа цветка, так как индуцирует развитие женского и ингибирует формирование мужского цветка. Согласно этой модели, предложенной в 1995 г. (T.Yin, J.Quinn), следовало, что ген *F* кодирует белок, определяющий границы распределения этилена вдоль побега и таким образом, способствует развитию плодолистиков в цветке. Ген *M* кодирует белок, воспринимающий этиленовый сигнал и ингибирует развитие тычинок при пороговом уровне этилена. Кроме того, данная модель объясняет раннее и позднее появление однополых цветков при росте побега.

Впоследствии были получены данные, подтверждающие обоснованность «этиленовой» модели развития полового типа цветка у тыквенных. Были картированы два гена – *CS-ACS1* и *CS-ACS2* (*1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase 1,2*), причем первый локализован в F-локусе, а экспрессия обоих генов коррелировала с половым фенотипом. В растениях с женскими цветками (gynoecious) было больше транскриптов этих генов, чем в однодомных с раздельнополыми цветками (monoecious) или однодомных с мужскими и обоеполыми цветками (andromonoecious). Последующее клонирование этих генов позволит окончательно обосновать состоятельность данной модели развития цветка у тыквенных растений.

В дополнение к предложенной модели приводим генетическую схему действия генов *F* и *M* и этилена, предложенную в 2001 г. S.Yamasaki с сотрудниками (рис. 42).

При генотипе растений *F-*, все флоральные примордии образуют достаточное количество этилена для индукции развития гинецея, в противоположном случае у растения с генотипом *ff* не все флоральные примордии

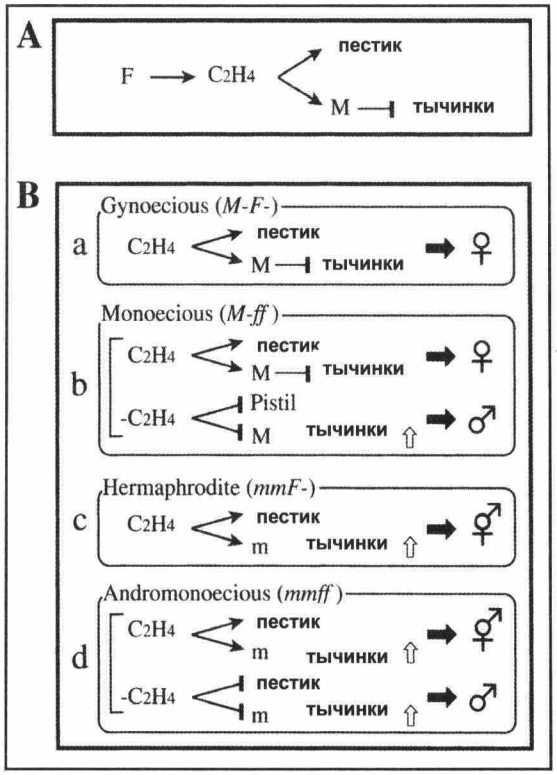


Рис. 42. A: генетическая модель формирования мужских, женских и обоеполых цветков с участием генетических локусов F и M и уровнем этилена у тыквенных растений. Функция F-локуса связана с ингибированием развития тычинок и индукцией развития пестиков у части флоральных примордий. Потеря функции F-локуса не влияет на развитие всех примордиев. Функция M-локуса проявляется в ингибировании развития тычинок во всех флоральных примордиях, а потеря функции приводит к ингибированию всех примордиев;

B: Gynoecious (M-F-) растения образуют только женские цветки – a; Monoecious (M-ff) образуют мужские и женские цветки – b; Hermaphroditic (mmF-) растения только с гермафродитными цветками – c; Andromonoecious (mmF-) растения образуют гермафродитные и мужские цветки – d.

При генотипе растений F- все флоральные примордии образуют достаточное количество этилена для индукции развития гинецея, в противоположном случае у растения с генотипом ff не все флоральные примордии образуют достаточное количество этилена для индукции женских цветков. Продукт локуса M действует опосредованно на ингибирование развития тычинок. Если генотип mm, то этиленовый сигнал не передается и подавления развития тычинок не происходит [Yamasaki et. al., 2001]

образуют достаточное количество этилена для индукции женских цветков. Продукт локуса *M* действует опосредованно на ингибирование развития тычинок. Если генотип *mm,* то этиленовый сигнал не передается и подавления развития тычинок не происходит [Yamasaki et. al., 2001]

Механизм дифференцировки бисексуальных примордиев в женский или мужской цветок у большинства цветковых растений реализуется на основе селективной элиминации тычинок или плодолистиков в цветке противоположного пола. Реализация этого механизма у *C. sativus* определяется функцией гомеозисных MADS-бокс-генов – *CUCUMBER MADS 1, 26.* Ген *CUM26* является ортологом гена *PI* арабидопсис и выполняет функцию B,

Словарь терминов

Аллель – вариант одного и того же гена. Возможны серии множественных аллелей одного гена

Андрогенез – разновидность партеногенеза, когда развиваются лишь особи мужского пола

Андрогены – мужские половые гормоны позвоночных животных, регулирующие развитие организма по мужскому типу (тестостерон, андростерон и др.)

Андроцей – совокупность мужских генеративных органов (тычинок) в цветке

Антимюллеров гормон – гормон, подавляющий у эмбрионов развитие Мюллеровых каналов, из которых у особей женского пола происходит развитие яйцеводов и зачатков матки

Апоптоз – запрограммированная гибель клетки в ответ на внешние или внутренние сигналы. Апоптоз происходит во время нормального развития, но может быть результатом рака, ВИЧ, болезни Альцгеймера и др.

Ароматаза – фермент из семейства цитохромов Р-450, катализирующий превращение андрогенов в эстрогены на одном из этапов биосинтеза последних; в основном экспрессируется в яичниках и плаценте, в геноме человека ген CYP19 локализован на участке q21.1 хромосомы 15

Барра тельца – половой хроматин; конденсированная единичная Х-хромосома в ядрах соматических клеток млекопитающих и человека. Выявление телец Барра лежит в основе экспресс-метода диагностики пола и выявления отсутствия Х-хромосомы у женщин и наличия дополнительной Х-хромосомы у мужчин

Вольфовы протоки – мезонефральный проток бипотенциальной гонады, зачатки половых путей самок и самцов

Гамета – половая клетка

Гаметофит – 1) гаплоидный организм растений, на котором развиваются гаметы; 2) гаплоидная фаза в цикле развития спорообразующих растений, во время которой образуются гаметы, чередующаяся со спорофитом

Гаплоид – клетка или организм с одинарным набором хромосом в клетках

Гаплотип – комбинация аллелей разных генов, расположенных на одной хромосоме; комбинация определенных последовательностей нуклеотидов в конкретной молекуле ДНК

Ген – дискретный наследственный фактор в виде участка молекулы ДНК, выполняющий определенную функцию (синтез полипептида или белка, транспортной или рибосомальной РНК и др.)

Генная конверсия (Г.к.) – рекомбинации между отдельными частями генов. **Г.к.** является биологическим процессом, играющим важную роль в онтогенезе и эволюции живых организмов. Конверсия гена участвует в общей (гомологичной) рекомбинации, а также является одним из проявлений процесса репарации ДНК. В основе конверсии лежит общий механизм – исправление (коррекция) неспаренных (некомплементарных) оснований в рекомбинационном гетеродуплексе ДНК

Геном ядерный – совокупность всех генетических элементов в гаплоидном наборе хромосом клетки

Гермафродитизм – наличие признаков мужского и женского пола у одного и того же индивида

Гетерогаметный пол – пол организма, обладающего гетероморфными половыми хромосомами при определении пола по типу XY/или ZW и формирующего два типа гамет с гаплоиными наборами хромосом (X + A и Y + A) или (Z + A и W + A)

Гетерохроматин – генетически неактивные участки хромосом, находящиеся в конденсированном состоянии в течение всего клеточного цикла

Гиббереллин – фитогормон, эндогенный регулятор роста

Гинандроморфизм – наличие у одного организма групп клеток, тканей, органов с набором хромосом, характерных для разных полов

Гинецей – женский репродуктивный орган цветковых растений, совокупность плодолистиков одного цветка, образующих один или несколько пестиков

Гиногенез – партеногенетическое развитие по женскому типу

а *CUM1* – функцию С. Проявление фенотипа у гомеозисных мутантов *cum1/cum1* и *cum26/cum26/* показало, что формирование мужского или женского цветка у тыквенных определяется положением тычинок или плодолистиков в определенном круге, а не от половой принадлежности репродуктивной структуры, местоположение тычинок и плодолистиков в цветке определяется геном с функцией С, т.е. *CUM1*.

В конце этой главы, посвященной детерминации и дифференцировке пола у растений, следует подчеркнуть, что у растений, так же как и животных формирование и становление пола как признака происходит по общему сценарию:

фактор детерминации → бисексуальная стадия →
→ дифференцировка и формирование репродуктивных структур.

Бипотенциальная природа флоральных примордиев обеспечивает развитие по мужскому или женскому типу цветка в зависимости от природы сигнального фактора детерминации. Это может быть генетический фактор (GSD) с хромосомным механизмом полоопределения (X/A, X/Y) или так называемый фенотипический (ESD), у растений это в основном фитогормональный сигнал или освещенность. Важно также подчеркнуть, что бипотенциальная природа флоральных примордиев всех половых типов растений, а также существование большого числа переходных форм, несомненно могут свидетельствовать о происхождении двудомных растений от гермафродитных.

1. По каким критериям проведена классификация половых типов цветковых растений?
2. Какие механизмы обеспечивают поддержание двудомности у цветковых растений?
3. Какую роль выполняют MADS-бокс-гены в развитии типа цветка по ABC модели?
4. Сравните механизмы определения пола у смолевки (*Silene*) и щавеля (*Rumex*).
5. Укажите общие принципы развития пола у растений и животных.
6. Какие генетические механизмы лежат в основе развития однополого цветка однодомных растений кукурузы?
7. Укажите основные элементы генетической модели развития пола цветка у тыквенных растений.

Заключение

Как известно, размножение организмов является необходимым условием существования и развития жизни на Земле, что подтверждается многообразием систем размножения. Пол и комплекс признаков воспроизведения организмов подвергались действию естественного отбора, начиная с ранних примитивных форм жизни вплоть до ныне существующих высокоорганизованных высших растений и животных, включая и человека.

Открытие в начале XX в. в кариотипах многих организмов гетероморфных хромосом, получивших название «половые хромосомы», явилось вехой в развитии генетики и создания Т.Морганом хромосомной теории наследственности. Хромосомное определение пола было и остается единственной научной гипотезой, получившей экспериментальные доказательства на тысячах видов эукариотических организмов. Генетики понимали, что в формировании такого сложного комплексного признака как «пол» участвуют десятки генов, локализованных как в половых хромосомах, так и в аутосомах. Было постулировано несколько типов генетического определения пола (GSD):

- серия аллелей одного локуса примитивных половых хромосом;
- пол-детерминирующая роль гена/генов одной из половых хромосом (Y, W);
- баланс генов, локализованных в X-хромосоме и аутосомах;
- уровень плоидности.

При фенотипическом или модификационном типе определения пола (ESD) – температура и гормональные факторы, а также pH-среды, уровень освещенности и др.

Широкое распространение полового размножения и проявление полового диморфизма в различных таксономических группах, а также многообразие механизмов определения пола свидетельствуют о неоднократности и независимости его возникновения. Половой диморфизм является эволюционным приобретением всех позвоночных, некоторых видов цветковых рас-

Гинодвудомность (Gynodioecy) – женские и гермафродитные цветки на одном растении

Голандрический тип наследования – наследование признаков, сцепленных с гетероморфной половой хромосомой (Y и W)

Гомогаметный пол – характеризующийся наличием двух идентичных половых хромосом и формированием однотипных гамет (X + A) – при гомогаметности женского пола и (Z + A) – при гомогаметности мужского пола

Двудомность (Dioecy) – наличие у растений мужских и женских цветков на разных особях

Делеция – хромосомная мутация, при которой теряется фрагмент хромосомы

Детерминация пола – процесс реализации комплекса механизмов, определяющих пол у отдельных особей данного вида

Диплоид – организм, характеризующийся двойным набором хромосом

Дифференциация пола – генетически детерминированный процесс превращения половых клеток в оогонии и сперматогонии в процессе закладки и развития половых органов

Дупликация – хромосомная мутация, при которой фрагмент хромосомы удваивается

Зигота – клетка (новый организм), образовавшаяся в результате слияния сперматозоида и яйцеклетки

Кариотип – совокупность признаков (число, размеры, форма и т. д.) полного набора хромосом данного биологического вида

Компенсация дозы генов – механизм регуляции экспрессии генов в X- или Z-хромосомах

Конгенитальная (врожденная) гипоплазия надпочечников (Adrenal hypoplasia congenita – AHC) – редкая форма недостаточности надпочечников, которая встречается в виде спорадической, аутосомно-рецессивной и X-связанной формы и проявляется у новорожденных в виде сольтеряющего синдрома надпочечниковой недостаточности. В основе X-связанной формы врожденной гипоплазии коры надпочечников в сочетании с гипогонадотропным гипогонадизмом лежат мутации по гену DAX-1 [DSS (*dosage sensetive sex*)]

Лейдига клетки (Leydig Cells) – интерстициальные клетки, рассеянные между извитыми семенными канальцами яичек, секретируют основное количество тестостерона

Мезонефрос (Mesonephros) или Вольфово тело (Wolf Flan Body) – парная первичная почка, которая образуется у зародыша. Отдельные участки мезонефроса становятся частью мужской репродуктивной системы. Мезонефральный проток превращается у мужчин в придаток яичка и семявыносящий проток, по которому из яичек выделяются сперматозоиды

Мейоз – способ деления клеток с образованием гамет, характеризующийся уменьшением числа хромосом вдвое

Метанефрос (Metanephros) – вторичная почка образуется в процессе зародышевого развития из мезонефроса

Митоз – способ деления соматических клеток организма, при котором сохраняется генетическая индивидуальность

Мюллеров проток – парамезонефрический проток бипотенциальной гонады, у человека из него образуются яйцеводы (фаллопиевы трубы) и часть влагалища

Однодомность (Monoecious) – мужские и женские цветки на одном растении

Оогенез – процесс деления и дифференцировки гониальной соматической клетки при мейозе, завершающийся образованием зрелой яйцеклетки

Перекрест хромосом (кроссинговер) – обмен идентичными участками гомологичных хромосом в мейозе, приводящий к генетической рекомбинации

Половой гормон (П.г.) – биологически активный стероид или полипептид, регулирующий развитие первичных и вторичных половых признаков, половое размножение и поведение и влияющий на обмен веществ; **П.г.** вырабатываются в половых железах, надпочечниках и плаценте, к ним относятся андрогены

Половой диморфизм – различие особей мужского и женского пола по морфологическим, биохимическим, физиологическим, цитологическим признакам, а также по экологии и поведению

Половые хромосомы – гомологичные хромосомы, отличающиеся по структуре и функциям от аутосом и определяющие пол развивающейся особи

Признаки, зависимые от пола – признаки, проявляющиеся специфично у определенного пола (борода, лысина – у мужчин, рога – у животных)

Признаки, ограниченные полом – признаки, проявляющиеся лишь у особей одного пола (развитие молочной железы у самок, яйценоскость у кур и др.)

Признаки, сцепленные с полом – признаки, детерминируемые генами, локализованными в половых хромосомах (X, Y и др.)

Пронефрос (Pronephros) – предпочка, развивающаяся у эмбриона, практически не выполняет в организме эмбриона никаких функций и вскоре исчезает (функционирует в течение 40–50 ч)

Размножение бесполое – копирование себе подобных клеток и организмов путем митотического деления

Размножение половое – процесс оставления потомства двумя индивидами путем образования специфических половых клеток (мужских и женских гамет), последующего оплодотворения и образования зиготы (нового организма)

Реципрокные скрещивания – система из двух скрещиваний, прямого и обратного. Генотипически различные формы используются в скрещиваниях 2 раза, один раз в качестве материнской формы, второй – в качестве отцовской – (♀A × ♂B и B♀ × ♂A)

Сертоли клетки – соматические клетки, расположенные в извитых канальцах семенников млекопитающих. Основные продукты: фактор регрессии мюллеровых протоков – антимюллеров гормон (AMH), секретируется в эмбриональном периоде

Сперматогенез – образование мужских половых гаплоидных клеток – сперматозоидов в процессе мейоза

Сперматозоид – подвижная мужская клетка-гамета

Сперматоцит второго порядка – мужская половая клетка, образующаяся в результате I деления мейоза

Спермии – мужские гаметы, не имеющие жгутиков и участвующие в оплодотворении у покрытосеменных и голосеменных растений

Спорофит – диплоидное, образующее споры поколение в жизненном цикле растений, характеризующихся чередованием поколений; у высших растений С. превалирует над гаметофитом

Тека клетки – гранулезные клетки, в них образуются эстрогены (эстрадиол и эстрон)

Тестикулярная феминизация – развивается при полной резистентности к андрогенам

Тестостерон – гормон и его производные регулируют дифференцировку половых органов половое развитие, сперматогенез и образование спермы

Трансгеноз – перенос генов от одного организма к другому независимо от их видовой принадлежности

Транскрипционный фактор – это белок, который после его перемещения в ядро клетки регулирует транскрипцию, специфически взаимодействуя с ДНК, либо стехиометрически взаимодействуя с другим белком, который может образовывать специфичный к последовательности ДНК комплекс

Транслокация – хромосомная перестройка, связанная с обменом участков негомологичных хромосом и приводящая к изменению группы сцепления генов

Эстрадиол – женский половой гормон группы эстрогенов; вырабатывается в яичниках и плаценте (а также в семенниках) и обусловливает развитие вторичных женских половых признаков

Эстрогены – женские половые гормоны (эстрадиол, эстриол, эстрон), вырабатываемые фолликулами яичников, плацентой, частично корой надпочечников

Этилен – газ этилен (C_2H_4), относят к гормонам растений. Синтезируется в растениях, в низких концентрациях регулирует рост, активирует созревание плодов, вызывает старение листьев и цветков, опадение листьев и плодов. У тыквенных растений выполняет феминизирующую роль в развитии цветка

X-хромосома – гетерохромосома, входящая в систему половых хромосом XX/XY, у млекопитающих и человека определяет развитие по женскому типу (парная половая хромосома в клетках особей гомогаметного пола при системе хромосом XX/XY)

W-хромосома – гетерохромосома, входящая в систему половых хромосом ZZ/ZW

Y-хромосома – гетерохромосома, входящая в систему половых хромосом XX/XY, у млекопитающих и человека определяет развитие по мужскому типу

Z-хромосома – гетерохромосома, входящая в систему половых хромосом ZZ/ZW

Рекомендуемая литература

Алексеевич Л.В., Лукин Н.А., Никитин Н.С., Некрасова А.А., Смирнов А.Ф. Проблемы детерминации пола у птиц на примере *Gallus gallus domesticus* // Генетика. 2009. № 4. Т. 45, № 3. С. 293–304.

Астауров Б.Л. Генетика пола // Актуальные вопросы современной генетики. М., 1966.

Астауров Б.Л. Проблема регуляции пола // Наука и человечество. М., 1963. Т. 2.

Астауров Б.Л. Значение опытов по мерогонии и андрогенезу для теории развития и наследственности // Успехи современной биологии. 1948. Т. 25. В. 1.

Баклушинская И.Ю. Эволюция системы определения пола у млекопитающих // Известия РАН. Серия биологическая. 2009. № 2. С. 209–217.

Богданов Ю.Ф. Эволюция одноклеточных и многоклеточных эукариот. Ароморфоз на клеточном уровне // Журнал общей биологии. 2008. Т. 69. № 2. С. 102–117.

Богданова Т.Л., Солодова Е.А. Биология: Справочник для старшеклассников и поступающих в вузы. 3-е изд. М: АСТ-ПРЕСС школа, 2008. 816 с.

Воронцов Н.Н., Фомичева И.И., Баранов О.К. Перспективы и границы применения электрофоретических и иммунологических методов в таксономии млекопитающих // Зоол. журн. 1972. Т. 51. Вып. 12. С. 1864–1869.

Гилева Э.А. Эволюция половых хромосом у млекопитающих. Итоги науки техники // Общая генетика. 1981. Т. 7. С. 13–59.

Глазко В.И., Глазко Г.В. Русско-англо-украинский толковый словарь по прикладной генетике, ДНК-технологии и биоинформатике. Изд. КВЦ: Киев, 2001. 588 с.

Гринев В.В. Генетика человека: Курс лекций. Минск: БГУ, 2006. 131 с.

Дарвин Ч. Происхождение человека и половой отбор: Сочинения / Под ред. акад. Е.П.Павловского. Изд. АН СССР, 1953. Т. 5. 1040 с.

Инге-Вечтомов С.Г. Генетика с основами селекции. М.: Высшая школа, 1989. 591 с.

Кауфман З.К. Эволюция и размножение пола. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 1994.

Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. Ленинград: Наука, 1987. 520 с.

Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. М.: Знание, 1974. 64 с.

Лутова Л.А., Проворов Н.А., Тиходеев О.Н., Тихонович И.А., Ходжайова Л.Т., Шишкова С.О. Генетика развития растений. С-Пб.: Наука, 2000. 539 с.

Мак-Ларен Э. Детерминация пола у млекопитающих // Онтогенез. 1993. Т. 24. С. 5–30.

Максимовский Л.Ф. Возможности направленного воздействия на формирование соотношения полов у животных // С.-х. биология. 1988. № 1. С. 10–19.

Осипова Г.Р. Генетика развития пола и его нарушения // Генетика. 1996. Т. 32. № 2. С. 184–191.

Свердлов Е.Д. Очерки структурной молекулярной генетики // Взгляд на жизнь через окно генома: Курс лекций. В 3-х т. – М.: Наука, 2009. Т. 1. 525 с.

Смирнов А.Ф. Молекулярно-генетические механизмы первичной детерминации пола у млекопитающих // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 1. С.26–34.

Степанов В.А., Харьков В.Н., Пузырев В.П. Эволюция и филогеография линий Y-хромосомы человека // Информационный вестник ВОГиС Институт цитологии и генетики СО РАН. 2006. № 10. С. 57–73.

Струнников В.А. Регуляция пола в практическом шелководстве // Природа. 1972. № 7. С. 36–47.

Струнников В.А., Струнникова Л.В., Павлов М.Ю. Искусственный амейотический гиногенез у тутового шелкопряда // ДАН СССР. 1981. Т. 258. № 2. С. 491–494.

Тихомирова М.М. Детерминация и дифференциация пола у млекопитающих // Успехи современной генетики. 1985. № 13. С. 173–201.

Чайлахян М.Х., Хрянин В.Н. Пол растений и его гормональная регуляция // Вестник Башкирского университета. М.: Наука, 2001. № 2(1). С. 170–173.

Ainsworth C., Parker J., Grant D. Intersex inflorescences of *Rumex acetosa* demonstrate that sex determination is unique to each flower // New Phytologist. V. 165. P. 3.

Arumuganathan K., Earle E.D. Nuclear DNA content of some important plant species // Plant Molecular Biological Reproduction. 1991. V. 9. P. 208–218.

Bachtrog D., Charlesworth B. Reduced adaptation of a non-recombining neo-Y chromosome // Nature. 2002. V. 416. № 21. P. 323–326.

Bachtrog D. A dynamic view of sex chromosome evolution // Current Option Genetics Development. 2006. V. 16. P. 578–85.

Bachtrog D., Charlesworth B. Reduced adaptation of a non-recombining neo-Y chromosome // Nature. 2002.V. 416. № 21. P. 323–326.

Becker A., Kaufmann K., Freialdenhoven A., Vincent C., Li M.A., Saedler H Theissen G.A. Novel MADS-box gene subfamily with a sister-group relationship to class B floral homeoticgenes // Mol. Genet. Genomics. 2002. V. 266. № 6. P. 942–50.

Bowman J.L., Smyth D.R., Meyerowitz E.M. Genes directing flower development in *Arabidopsis* // Plant Cell. 1989. V. 1. P. 37–52.

Bowman J.L., Smyth D.R., Meyerowitz E.M. Genetic interactions among floral homeotic genes of Arabidopsis // Development. 1991. V. 112. P. 1–20.

Bridges C.B. Triploid interseces in Drosophila melanogaster // Science. 1921. V. 54. P. 13–35.

Bromham L., Penny D. The modern molecular clock // Nature. 2003. V. 4. P. 216–224.

Calliari L.E.P., Longui C.A. et al. A novel mutation in DAX1 gene causing different phenotypes in three siblings with adrenal hypoplasia congenital // Genet. Mol. Res. 2007. № 6 (2). P. 277–283.

Charlesworth B., Charlesworth D. The degeneration of Y chromosomes // Phil. Trans. R. Soc. Lond. 2000. V. 355. P. 1563-1572.

Charlesworth D., Guttman D. The evolution of dioecy and plant sex chromosome systems // In Sex Determination in Plants / Edited by Ainsworth CC. Oxford. UK: BIOS Scientific Publishers. 1999. P. 25–49.

Chen P., Ellis R. TRA-1A regulates transcription of fog-3, which controls germ cell fate in C. elegans // Development. 2000. January 7. 127(14). P. 3119–3129.

Coen E.S. The role of homeotic genes in flower development and evolution // Annual Revews in Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 1991. V. 42. P. 241–279.

Coen E.S., Meyerowitz E.M. The war of the whorls: genetic interaction controlling flower development // Nature. 1991. V. 353. P. 31–37.

Coschigano K.T., Wensink P.C. Sex-specific transcriptional regulation by the male and female doublesex proteins of *Drosophila* // Genes and Development 1993. V. 7. P. 42–54.

Crain DA., Guillette L.J.Jr. Reptiles as models of contaminant-induced endocrine disruption // Anim Reprod Sci. 1998. N. V. 53. P.77–86.

Devlin R.H., Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences // Aquaculture. 2002. V. 208. P. 191–364.

Diaz-Perez S.V., Ferguson D.O. et al. Deletion at the Mouse *Xist* Gene Exposes *Trans*-effects That Alter the Heterochromatin of the Inactive X Chromosome and the Replication Time and DNA Stability of Both X Chromosomes // Genetics. 2006. 174. № 3. P. 1115–1133.

Ezaz T., Stiglec R. et al. Relationships between Vertebrate ZW and XY Sex Chromosome Systems // Current Biology. 2006. V. 16. № 5. P. R736–R743.

Fraser J.A., Heitman J. Chromosomal sex-determining regions in animals, plants and fungi // Current Opinion in Genetics & Development. 2005. V. 15. P. 645–651.

Fridolfsson A.K., Cheng H. et al. Evolution of the avian sex chromosomes from an ancestral pair of autosomes // PNAS. 1998. V. 95. № 7. P. 8147–8152.

Goddard M. R., J.Godfray H. C. et al. Sex increases the efficacy of natural selection in experimental yeast populations // Nature. 2005. V. 434. № 31. P. 636–640.

Graves J.A.M. Human Y Chromosome. Sex Determination, and Spermatogenesis – A Feminist View // Biology of Reproduction. 2000. V. 63. P. 667–676.

Graves J.A.M., Shetty S. Sex from W to Z: Evolution of vertebrate sex chromosomes and sex determining genes // Journal of Experimental Zoology. Part A: Comparative Experimental Biology. 2001. V. 290. № 5. P. 449–462.

Graves J.A.M. The origin and function of the mammalian Y chromosome and Y-borne gene. An evolving understanding // Bioessays. 1995. V. 1. P. 311–321.

Grigelioniene G., Eklöf O. et al. Mutations in short stature homeobox containing gene (SHOX) in dyschondrosteosis but not in hypochondroplasia. Human Genetics. 2000. V. 107. № 2. P. 145–149.

Grützner F.W., Rens E. et al. In the platypus a meiotic chain of ten sex chromosomes shares genes with the bird Z and mammal X chromosomes // Nature. 2004. V. 432. P. 913–917.

Gubbay J., Collignon J. et al. A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes // Nature. 1990. V. 346. № 19. P. 245–250.

Haqq C., King C-Y., Ukiyama E., Falsafi S., Haqq N., Donahoe P.K., Weiss M.A. Molecular basis of mammalian sexual determination: Activation of Müllerian inhibiting substance gene expression by SRY // Science. 1994. № 266. P. 1494–1500.

Hiramatsu R., Matoba S. et al. A critical time window of *Sry* action in gonadal sex determination in mice // Development. 2009. V. 136. № 1. P. 129–38.

Holter E., Kotaja N. et al. Inhibition of Androgen Receptor (AR) Function by the Reproductive Orphan Nuclear Receptor DAX-1 // Molecular Endocrinology 2002. V. 16, № 3. P. 515–528.

Hossain A., Saunders G.F. The human sex-determining gene SRY is a direct target of WT1 // J. Biol. Chem. 2001. № 276. P. 16817–16823.

Jobling M. A., Tyler-Smith C. The human Y chromosome an evolutionary marker comes of age. Reviews // Nature Reviews Genetics. 2003. V. 4. № 8. P. 598–612.

Jost A., Price D., Edwards R.G. Hormonal Factors in the Sex Differentiation of the Mammalian Foetus and Discussion // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences. 1970. V. 259 № 828. P. 119–131.

Just W., Rau W. et al. Absence of *Sry* in species of the vole *Ellobius* // Nature Genetics. 1995. P. 117–118.

Kanai Y., Hiramatsu R. et al. From *SRY* to *SOX9*: Mammalian Testis Differentiation // Journal of Biochemistry. 2005. V. 138. № 1. P. 13–19.

Kater M.M., Franken J., Carney K.J., Colombo L., Angenent G.C. Plant Research International, Business Unit Plant Development and Reproduction, 6700 AA Wageningen, The NetherlandsAinsworth CC, Lu J, Winfield M. et al.

Keisman E., Baker B. The Drosophila sex determination hierarchy modulates wingless and decapentaplegic signaling to deploy dachshund sex-specifically in the genital imaginal disc // Development. 2001. V. 128. № 5. P. 1643–1656.

Kejnovsky E., Kubat Z. et al. Accumulation of chloroplast DNA sequences on the Y chromosome of *Silene latifolia* // Genetica. 2006. V. 128. P. 167–175.

Kim J.C., Laparra H., A.Caldero´n-Urrea J.P., Mottinger M.A., Moreno S.L. Dellaporta // Cell Cycle Arrest of Stamen Initials in Maize Sex Determination. Genetics. 2007. V. 177. P. 2547–2551.

Kondo M., Hornung U. et al. Genomic organization of the sex-determining and adjacent regions of the sex chromosomes of medaka // Genome Research. 2006. V. 16. P. 815–826.

Koopman P., Bullejos M. et al. Regulation of male sexual development by *Sry* and *Sox9* // Journal of Experimental Zoology. 2001. V. 290. № 5. P. 517–522.

Koopman P., Capel M.A. et al. Expression of a candidate sex-determining gene during mouse testis differentiation // Nature. 1990. V. 348. P. 450–452.

Koopman P.J., Gubbay N. et al. Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry* // Nature. 1991. V. 351 P. 117–121.

*Lengerova M., Vyskot B.*Sex chromatin and nucleolar analyses in Rumex acetosa L. // Protoplasma. 2001. V. 217(4). P. 147–53.

Lieb J.D., Albrecht M.R., Chuang P.T., Meyer B.J. An essential component of the C. elegans mitotic machinery executes X chromosome dosage compensation // Cell. 1992. P. 265–277.

Lieb J.D., Solorzano C.O., Rodriguez E.G., Jones A., Angelo M., Lockett S., Meyer[a] B.J. The *Caenorhabditis elegans* Dosage Compensation Machinery Is Recruited to *X* Chromosome DNA Attached to an Autosome // Genetics. 2000. V. 156. P. 1603–1621.

Liu Z., Moore P.H. et al. A primitive Y chromosome in Papaya marks the beginning of sex chromosome evolution // Nature. 2004. V. 427. P. 348–352.

Lutfalla G., Crollius H.R. et al. Inventing a Sex-Specific Gene: A Conserved Role of DMRT1 in Teleost Fishes Plus a Recent Duplication in the Medaka *Oryzias latipes* Resulted in DMY //Journal of Molecular Evolution. 2003. V. 57. P. 148–153.

Manolakou P., Lavranos G., Angelopoulou R. Molecular patterns of sex determination in the animal kingdom: a comparative study of the biology of reproduction // Reproductive Biology and Endocrinology. 2006. V. 4. P. 59.

Manolakou P., Lavranos G. et al. Molecular patterns of sex determination in the animal kingdom: a comparative study of the biology of reproduction // Reproductive Biology and Endocrinology. 2006. V. 3. № 4–59. P. 1477–7827.

Mariotti B., Manzano S. et al. Accumulation of Y-specific satellite DNAs during the evolution of *Rumex acetosa* sex chromosomes // Molecular Genetics and Genomics. 2008. V. 16.

Matsuda M. Sex determination in the teleost medaka *Oryzias latipes* // Annual Reviews of Genetics. 2005. V. 39. P. 293–307.

Matsuda Y., Nishida-Umehara C. et al. Highly conserved linkage homology between birds and turtles: bird and turtle chromosomes are precise counterparts of each other // Chromosome Research. 2005. V. 13. P. 601–615.

Ming R., Moore P.H. Genomics of sex chromosomes // Current Opinion in Plant Biology. 2007. V. 10 P. 123–130.

Ming R., Wang J. et al. Sex chromosomes in flowering plants // American Journal of Botany. 2007. V. 94. P.141–150.

Morrish B.C., Sinclair A.H. Vertebrate sex determination: many means to an end // Reproduction. 2002. V. 124. P. 447–457.

Muller H.J. The relation of recombination to mutational advance // Mutation Research. 1964. V. 106. P. 2–9.

Muller H.J. A gene for the fourth chromosome of *Drosophila* //Journal of Experimental Zoology. 1914. V. 17. P. 325–336.

Nanda I., Kondo M. et al. A duplicated copy of *DMRT1* in the sex-determining region of the Y chromosome of the medaka, Oryzias latipes // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. V. 99. № 3. (18). P. 11778–11783.

Ohno S. Sex Chromosomes and Sex-Linked Genes, Springer-Verlag. Heidelberg, Germany, 1967. 202 p.

Ospina-Álvarez N., Piferrer F. Temperature-Dependent Sex Determination in Fish Revisited: Prevalence, a Single Sex Ratio Response Pattern, and Possible Effects of Climate Change // PLoS ONE. 2008. V. 3. № 7. P. 1–11.

Palmer M.S., Sinclair A.H. et al. Genetic evidence that *ZFY* is not the testis-determining factor // Nature. 1989. V. 342. P. 937–939.

Peichel CL., Ross JA., Matson CK., Dickson M., Grimwood J., Schmutz J., Myers RM., Mori S., Schluter D., Kingsley DM. The master sex-determination locus in threespine sticklebacks is on a nascent Y chromosome // Curr. Biol. 2004.V. 14. P. 1416–1424.

Pomiankowski A., Nöthiger R., Wilkins A. The evolution of the Drosophila sex-determination pathway. Genetics. 2004. V. 166. P. 1761–1773.

Quintana-Murci L., Fellous M. The human Y chromosome: the biological role of a "functional wasteland" // J. Biomed Biotechnol. 2001. V. 1. P. 18–24.

Rejón R., Jamilena C. et al. Cytogenetic and molecular analysis of the multiple sex chromosome system of Rumex acetosa // Heredity. 1994. V. 72. P. 20.

Rens W. The multiple sex chromosomes of platypus and echidna are not completely identical and several share homology with the avian Z // Genome Biology. 2007. V. 8. № 11. P. 243–249.

Rens W.F., Grutzner F. et al. Resolution and evolution of the duck-billed platypus karyotype with an X1Y1X2Y2X3Y3X4Y4X5Y5 male sex chromosome constitution // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2004. V. 101. P. 16257–16261.

Ross M.T., Bentley D.R. et al. The sequences of the human sex chromosomes // Current Opinion in Genetics & Development. 2006. V.16. P. 213–218.

Ross M.T., Grafham D.V. et al. The DNA sequence of the human X chromosome // Nature. 2005. V. 434. P. 325–337.

Rozen S., Skaletsky H. et al. Abundant gene conversion between arms of palindromes in human and ape Y chromosomes // Nature. 2003. V. 423 (6942). P. 873–876.

Sandstedt S.A., Tucker P.K. Evolutionary Strata on the Mouse X Chromosome Correspond to Strata on the Human X Chromosome // Genome Research. 2004. V. 14. P. 267–272.

Schartl M. Sex chromosome evolution in non-mammalian vertebrates // Current opinion in genetics & development. 2004 .V. 14. P. 634–641.

Schartl M. A comparative view on sex determination in medaka // Mech. Dev. 2004. V. 121. P. 639–645.

Sex determination by X: autosome dosage: *Rumex acetosa* (sorrel) // Sex determination in plants. Ainsworth CC (ed) BIOS Scientific Publishers, Oxford, 1999 p. P. 121–131.

Sinclair AH., Berta P. et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif // Nature. 1990. V. 346. P. 240–244.

Skaletsky H., Kuroda-Kawaguchi T. et al. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes // Nature. 2003. V. 423. № 19. P. 825–837.

Smith C.A., Sinclair A.H. Sex determination: insights from the chicken // BioEssays. 2004. V. 26. P. 120–132.

Smith C.A., Roeszler K.N. et al. The avian Z-linked gene *DMRT1* is required for male sex determination in the chicken // Nature. 2009. V. 461. № 10. P. 267–271.

Tanurdzic M., Banks J.A. Sex-Determining Mechanisms in Land Plants // The Plant Cell. 2004. V. 16. S61–S71.

The Y Chromosome Consortium. A Nomenclature System for the Tree of Human Y-Chromosomal Binary Haplogroups // Genome Research. 2002. V. 12. P. 339–348.

Tilmann C., Capel B. Cellular and Molecular Pathways Regulating Mammalian Sex Determination // Recent Progress in Hormone Research. 2002. № 57. P. 1–18.

Traut W., Winking H. Meiotic chromosomes and stages of sex chromosome evolution in fish: zebrafish, platyfish and guppy // Chromosome Research. 2001. V. 9. № 8. P. 659–672.

Tuskan G.A., McLetchie D.N. Gender determination in *Populus* // Norw. J. Agric. Sci. 1994. V. 18. P. 57–66.

Uhlenhaut N.H., Jakob S., Anlag K., Sekido R., Kress J.Treier., Klugmann A-C., Klasen C., Holter N.I., Riethmacher D., Schütz G., Cooney A.J., Lovell-Badge R., Treier M. Somatic Sex Reprogramming of Adult Ovaries to Testes by FOXL2 Ablation // Cell. V. 139 № 11(6). P. 1130–1142.

Vyskot B., Araya A., Veuskens J., Negrutiu I., Mouras A. DNA methylation of sex chromosomes in a dioecious plant // Melandrium album. Mol. Gen. Genet. 1993. May. P. 239(1–2):219–24.

Waters P.D., Duffy B. et al. The human Y chromosome derives largely from a single autosomal region added to the sex chromosomes 80–130 mya // Cytogenet. Cell Genet. 2001. V. 92. P. 74–79.

Wilgenburg E., Driessen G., Beukeboom L.W. Single locus complementary sex determination // Hymenoptera: an "unintelligent" design? Frontiers in Zoology. 2006. № 3:1.

Wilhelm D., Palmer S., Koopman P. Sex Determination and Gonadal Development in Mammals // Physiological Reviews. 2007. V. 87. P. 1–28.

Yamasaki S., Fujii N., Matsuura S., Mizusawa H., Takahashi H. The *M* locus and ethylene-controlled sex determination in andromonoecious cucumber plants // Plant and Cell Physiology. 2001. V. 42 P. 608–619.

Yamomoto T.O. Progeny of artificially induced sex-reversals of male genotype (XY) in the medaka (*Oryzias latipes)* with special reference to YY-male // Genetics. 1955. V. 40. № 3. P. 406–419.

Yao H.H-C., Capel B. Temperature, Genes, and Sex: a Comparative View of Sex Determination in Trachemys scripta and Mus musculus // Journal of Biochemistry. 2005. V. 138. № 1. P. 5–12.

Yin T., Di-Fazio S.P. et al. Genome structure and emerging evidence of an incipient sex chromosome // Populus Genome Res. 2008. V. 18. P. 422–430.

Yu Q., Hou S. et al. Low X/Y divergence in four pairs of papaya sex-linked genes //The Plant Journal. 2008. V. 53. № 1. P. 124–132.

Zluvova J., Janousek B., Negrutiu I., Vyskot B. Comparison of the X- and Y-chromosome organisation in Silene latifolia // Genetics. 2005. V. 170. P. 1431–1434.

Оглавление

Введение 5

Глава 1. Половое размножение и его биологическое значение 8

1.1. Эволюционное и приспособительное значение полового размножения 9

1.2. Мейоз и его основные функции. Гаметогенез 9

1.3. Формы полового размножения 13

1.4. Наследование признаков, сцепленных с полом 19

1.5. Признаки, зависимые от пола и ограниченные полом 22

1.6. Логические типы определения пола: прогамное, сингамное, эпигамное 23

Глава 2. Хромосомные системы определения пола 27

2.1. Гомогаметный и гетерогаметный пол 27

2.2. Структурно-функциональная организация половых хромосом 29

2.3. Происхождение и эволюция половых хромосом 36

Глава 3. Генетический контроль детерминации и дифференцировки пола у животных 42

3.1. Генетика определения пола у дрозофилы 42

3.1.1. Молекулярно-генетические механизмы дифференцировки пола у дрозофилы (*Drosophila melanogaster*) 43

3.2. Детерминация и дифференцировка пола у нематоды (*Caenorhabditis elegans*). Механизм дозовой компенсации 47

3.3. Генетический контроль детерминации и дифференцировки пола у млекопитающих и человека 49

3.3.1. Этапы формирования гонад: от бипотенциальности к дифференцированным гонадам мыши и человека 51

3.3.2. Генетический контроль половой дифференцировки у млекопитающих и человека 55
3.3.3. Роль гормонов в развитии пола. Гены рецепторов гормонов 66
3.4. Компенсация дозы генов Х-хромосом у млекопитающих и человека 69
Глава 4. Многообразие типов определения пола 72
4.1. Определение пола у рыб 72
4.2. Регуляция пола у рыб и тутового шелкопряда 73
4.3. Определение пола у птиц 76
4.4.Определение пола у пчел 77
Глава 5. Определение пола у растений 79
5.1. Половой диморфизм у мохообразных (*Bryophita*) 81
5.2. Половой диморфизм и половые типы у цветковых растений (*Angiospermae*) 81
5.3. Генетический контроль флорального развития обоеполого цветка *Arabidopsis thaliana* 83
5.4. Генетический контроль детерминации и дифференцировки однополого цветка у двудомных растений (*Silene latifolia, Rumex acetosa*) 86
5.5. Генетический контроль детерминации и дифференцировки однополого цветка у однодомных растений (*Zea mays, Cucumis sativus*) 89
Заключение 95
Словарь терминов 98
Рекомендуемая литература 104

Асланян Марлен Мкртичевич,
Солдатова Ольга Павловна

ГЕНЕТИКА И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ПОЛА

Учебное пособие
для студентов, обучающихся по направлению «биология»

Москва: Авторская академия;
Товарищество научных изданий КМК, 2010. 270 с.

Для заявок:
123100 Москва а/я 16, изд-во КМК
или:
smirnova-ov@yandex.ru
см. также
http://avtor-kmk.ru

Отпечатано в ООО «Галлея-Принт», Москва, ул. 5-я Кабельная, 26.
Подписано в печать 10.03.2010. Заказ №
Формат 60 × 90/16. Гарнитура Garamond. Объем 17 печ. л.
Бумага офсетная. Тираж 300 экз.