

Глава 13. Генетика определения пола

13.1. Гинандроморфы, интерсексы, гермафродиты и другие половые отклонения	4
13.2. Балансовая теория определения пола у дрозофилы	5
13.3. Действие генов при определении пола у дрозофилы	6
13.4. Определение пола у млекопитающих	8
13.5. Компенсация дозы генов	10
13.5.1. Компенсация дозы генов у дрозофилы	10
13.5.2. Компенсация дозы генов у млекопитающих	14

13. Генетика определения пола

Давно замечено, что соотношение мужского и женского полов в потомстве фактически от любого скрещивания близко соответствует соотношению 1:1, т.е. в достаточно большой группе потомков на 100 самцов рождается 100 самок. Совершенно очевидно, что такое расщепление коррелирует с результатами особого генетического скрещивания - аналитического - когда один из родителей гетерозиготен, другой - гомозиготен по анализируемому признаку. Поэтому а priori можно предположить, что один из полов как бы гетерозиготен, а другой гомозиготен по фактору, определяющему пол. Цитологический анализ выявляет наиболее заметное различие у полов - сочетание половых хромосом в кариотипе, причем один пол имеет одинаковые хромосомы, в кариотипе другого - две разных половых хромосомы, т.е. этот пол как бы "гетерозиготен".

Привлекает внимание огромное разнообразие вариантов полового размножения и соответствующих ему версий определения пола, затруднена даже их классификация.

Выделяют несколько типов определения пола в зависимости от числа и состава половых хромосом, например, у самца могут быть X - и Y -хромосомы, а у самки - XX . К такому типу относятся человек, дрозофила, водяной клоп *Ligaeus*, по имени которого и назван данный тип определения пола, а также многие другие виды животных.

Еще один тип, названный по имени другого водяного клопа *Protenor*, и встречающийся у некоторых бабочек и червей, связан с наличием у самцов XO хромосом, а у самок двух X -хромосом.

Другой тип хромосомного определения пола найден у птиц, некоторых бабочек, рыб, земноводных и цветковых растений. У них гетерогаметным (т.е. с разными половыми хромосомами) полом является женский, и самки имеют набор половых хромосом ZW или ZO , в то время как самцы - ZZ .

Известны и некоторые другие типы определения пола.

Совершенно очевидно, что в перечисленных выше случаях колоссальные и легко фиксируемые различия в организации и физиологии особей разных полов развиваются на фоне идентичных у самцов и самок наборов генов, расположенных в большей части хромосом, не связанных с половыми различиями кариотипов - аутосомах. И напротив, все половые различия определяются сравнительно небольшим числом генов, заключенных в половых хромосомах.

Возникает вопрос, каким образом варьирование числа и состава половых хромосом может определять развитие мужского или женского полов? Еще более интересно, что, например, у дрозофилы, в Y -хромосоме генов практически нет (к настоящему времени открыто только 11 генов, влияющих на формирование сперматозоидов - см. Раздел 9.4.10.). Более того, при потере Y -хромосомы, особь XO также является самцом. А особь XXY - это нормальная плодовитая самка. Каким же образом формируются самцы и самки у дрозофилы?

Различают дифференциацию пола (фенотипический пол), то есть появление внешних гениталиев, вторичных половых признаков и первичное определение пола. Под первичным определением пола понимают появление гонады

(репродуктивного органа соматической природы) самки или самца - яичника или тестиса. Считается, что принципиальная схема этого процесса консервативна. Существует конкретный контролирующий сигнал, включающий некий ключевой ген. Этот ген, в свою очередь, активирует некое количество детерминант гонадогенеза и далее факторов дифференцировки половых признаков. Все компоненты этой системы могут различаться у разных животных (Из: Смирнов, 1997, стр. 27). В табл. 13.1. представлены принципиальные схемы определения пола у некоторых представителей животного мира, обозначены соответствующие гены.

В некоторых случаях появление мужского или женского пола определяется не наследственными различиями, а возникает под влиянием условий среды. Классическим примером служит морской червь *Bonellia viridis*. Самцы размером в несколько миллиметров живут в матке самки, где

выполняют свою задачу - оплодотворяют яйцеклетки. Самец является типичным паразитом, живущим внутри тела самки, размер которой примерно равен размеру сливы (Рис. 13.1.).

Свободно плавающие личинки, развивающиеся после оплодотворения яйцеклеток, некоторое время ведут свободный образ жизни, а затем прикрепляются к хоботу половозрелой

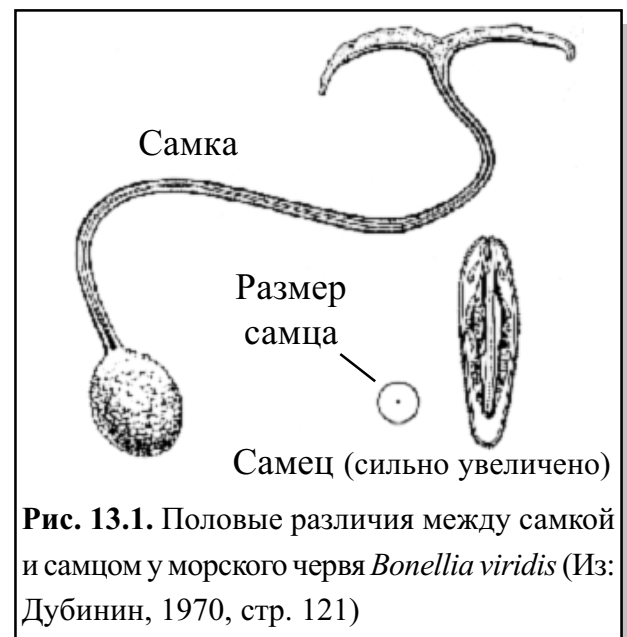


Рис. 13.1. Половые различия между самкой и самцом у морского червя *Bonellia viridis* (Из: Дубинин, 1970, стр. 121)

Табл. 13.1. Принципиальная схема определения пола у некоторых представителей животного мира (Из: Смирнов, 1997, стр. 27)

	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Alligator mississippiensis</i>	Mammalia
Контролирующий сигнал	Транскрипция <i>HO</i> -гена	Соотношение X-хромосом и аутосом	Внешняя температура	У-хромосома	
Ключевой ген	<i>MAT</i> (α/a)	<i>her</i> (+/-)	<i>Sxl</i> (+/-)	<i>TDF</i>	<i>TDF-SRY</i>
Гены, контролирующие гонадогенез (полопределяющие)	-	<i>xoll, sdc1, sdc2, her1, tra2, tra3, ferm1, ferm2, ferm3, tra1</i>	<i>sis-a, sis-b, da, liz, fl(2)d, Sxl, tra, tra2, dsx, ix</i>	Эффекторные молекулы, гормоны	Гормоны
Гены, контролирующие половую дифференцировку	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-

Примечание. + и - означают альтернативу включения или выключения соответствующего гена

самки, либо оседают и прикрепляются ко дну. Личинки этих двух сортов ничем друг от друга не отличаются. Куда попадает данная личинка - это дело случая. Однако во что превращается личинка, т.е. будет ли она самцом или самкой, определяется условиями в период несвободной жизни личинки. Личинки, прикрепившиеся к хоботу самки, развиваются в самцов. Они проникают в женские половые органы и живут там как паразиты. Личинки, прикрепившиеся ко дну, развиваются в самок.

13.1. Гинандроморфы, интерсексы, гермафродиты и другие половые отклонения

У дрозофилы и у других организмов известны случаи гинандроморфизма, когда разные участки тела по своим признакам принадлежат разным полам. Организм выглядит как мозаик, у которого одна часть мужская, а другая женская (Рис. 13.2.). В данном случае зигота имела две X -хромосомы и должна была развиваться в самку. Она была гетерозиготой по генам белоглазия и маленьких крыльев w^m/w^+m^+ . Во время первых делений дробления хромосома w^+m^+ была утеряна и экватор митотического деления располагался по линии симметрии от головной до хвостовой части эмбриона. В результате левая часть тела мухи состояла из клеток, имеющих только одну X -хромосому, что соответствует генотипу самца. Правая сторона имела две X -хромосомы и развилась в самку.

У непарного шелкопряда *Lymantria dispar* имеются резкие различия между самками и самцами. Скрещивания разных географических рас этой бабочки (европейских и японских) привело к появлению форм, переходных по своим

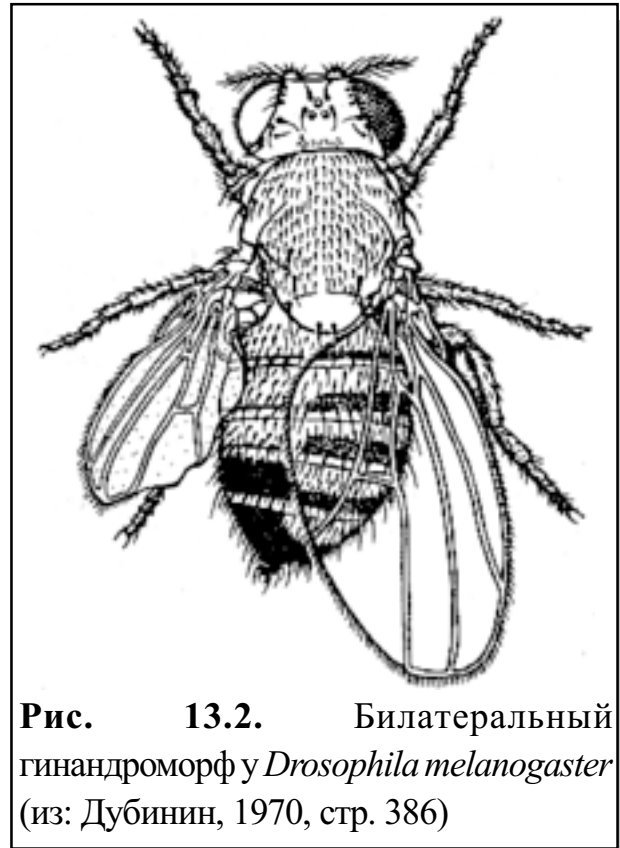


Рис. 13.2. Билатеральный гинандроморф у *Drosophila melanogaster* (из: Дубинин, 1970, стр. 386)

признакам между самцами и самками, т.е. к появлению интерсексуальности. Интерсексы обнаружены и у дрозофилы.

От гинандроморфов интерсексы отличаются тем, что у них отсутствуют различно детерминированные по полу сектора (Рис. 13.3.).

У интерсексов до определенного момента развития сохраняется генетически детерминированный пол, но затем развитие продолжается в направлении противоположного пола. В результате интерсексы отличаются от нормальных особей тем, что у них первичные и вторичные половые признаки носят промежуточный характер, образуя непрерывный ряд переходов от нормального самца к нормальной самке.

Наряду с разнополостью у многих растений и у низших животных мужской и женский пол совмещается в одном организме, который таким образом является гермафродитом.

13.2. Балансовая теория определения пола у дрозофилы

В 1921 году один из основоположников современной генетики Кальвин Бриджес обнаружил несколько самок, имевших триплоидный набор хромосом, т.е. $3X+3A$ - три набора X -хромосом и три набора аутосом. В результате скрещивания этих самок с нормальными самцами ($2A+XY$) в потомстве среди нормальных самок и самцов были обнаружены особи с промежуточным или необычным проявлением половых признаков. Все потомство распалось на 8 классов в зависимости от соотношения половых хромосом и аутосом:

1. $3X:3A$ - триплоидная самка
2. $2X:2A$ - диплоидная самка
3. $(2X+Y):2A$ - самка.

В этих трех случаях соотношение числа X -хромосом к числу аутосом составляет единицу. Наличие мужской Y -

хромосомы не влияет на нормальное развитие самки.

4. Особи, имеющие хромосомную конституцию $XY:2A$, т.е. у некоторых отношение числа X -хромосом к числу аутосом составляет 0.5, были нормальными самцами.

5 и 6. Интересными оказались особи $2X:3A$ и $(2X+Y):3A$, у которых отношение числа X -хромосом к числу аутосом было промежуточным между 0.5 и 1. Они имели смешанное проявление мужских и женских половых признаков. Такие особи были интерсексами (см. Рис. 13.3.).

7 и 8. И, наконец, если число наборов аутосом увеличивалось до трех при наличии одной X -хромосомы ($X:3A$), развивался “сверхсамец” - организм с гипертрофированными признаками самца, однако стерильный, слабый и быстро погибающий.

Напротив, увеличение числа X -хромосом при диплоидном наборе

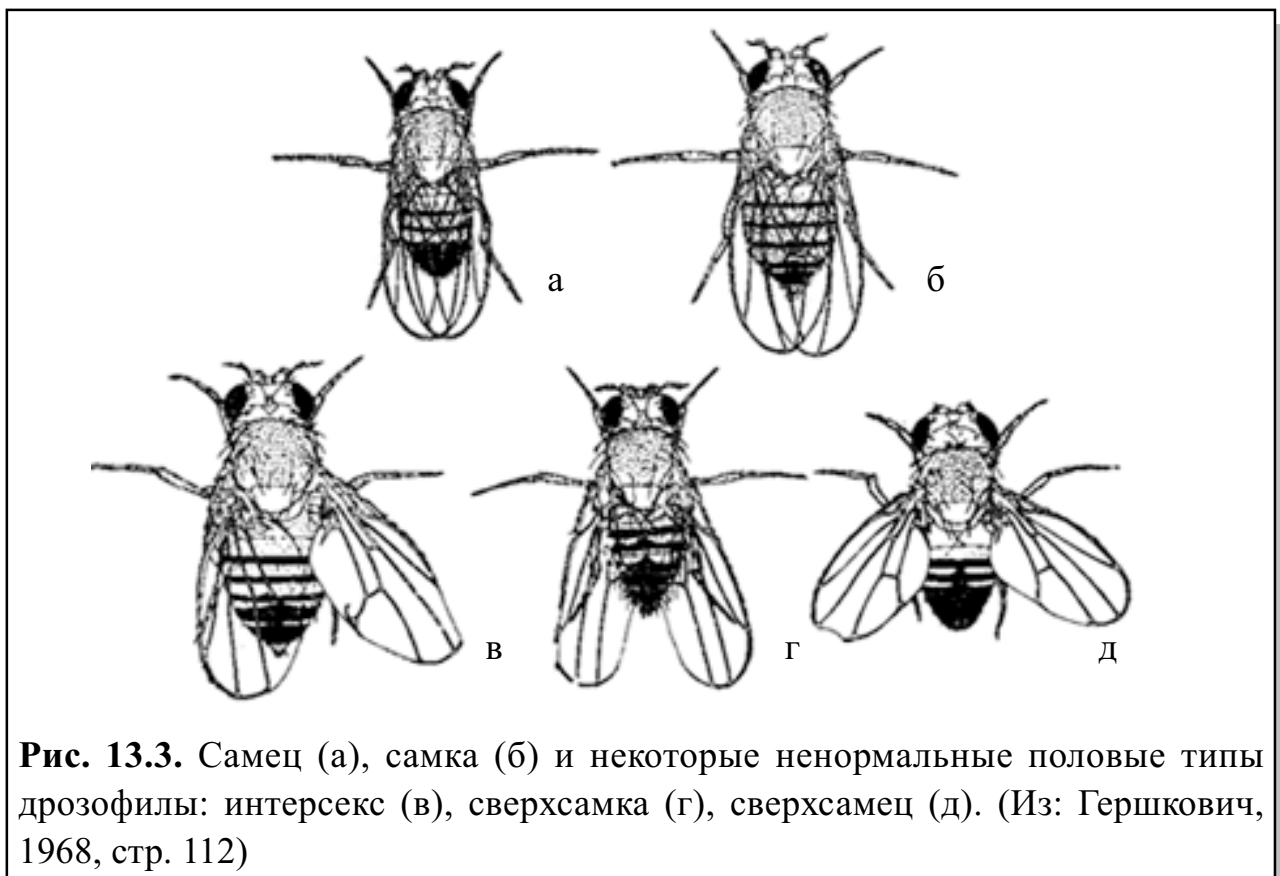


Рис. 13.3. Самец (а), самка (б) и некоторые ненормальные половые типы дрозофилы: интерсекс (в), сверхсамка (г), сверхсамец (д). (Из: Гершкович, 1968, стр. 112)

аутосом (3X:2A) ведет к формированию “сверхсамки” с ненормально развитыми яичниками и другими нарушениями признаков пола. Они слабые и быстро погибают.

К. Бриджес пришел к выводу, что не присутствие двух X-хромосом определяет женский пол и не наличие Y-хромосомы определяет мужской пол у дрозофилы. Пол по его мнению определяется балансом числа половых хромосом и наборов аутосом, т.е. Y-хромосома у дрозофилы вообще не играет роли в определении пола.

13.3. Действие генов при определении пола у дрозофилы

Каким образом соотношение числа X-хромосом и аутосом согласно балансовой теории Бриджеса может влиять на развитие пола? В последние годы у дрозофилы открыты многочисленные гены, влияющие на правильное формирование пола, среди них такие, как *Sxl* (Sex lethal), *da* (daughterless), *sis* (sisterless), *tra* (transformer), *dsx* (double sex) и др.

Эксперименты показывают, что результаты соотношения числа X-

хромосом и аутосом улавливаются геном *Sxl* на ранней стадии эмбрионального развития. Этот ген, в свою очередь, контролирует 3 различных направления дифференцировки пола: формирование половых признаков в соматических клетках и в клетках зародышевого пути, а также контроль дозовой компенсации (Рис. 13.4.). Каким образом это происходит?

На начальных этапах формирования пола у эмбрионов действуют гены *sis-a* и *sis-b*, расположенные в X-хромосоме, и ген *da*, расположенный в аутосоме. Белковые продукты этих генов образуют комплексную молекулу белка. Продукт гена *da* поступает в яйцеклетку из организма матери, его количество всегда соответствует двум дозам, т.к. он считывается с генов, локализованных в двух материнских аутосомах. Количество продуктов, считанных с генов *sis-a* и *sis-b*, зависит от того, сколько X-хромосом у эмбриона - две или одна. В клетках эмбриона женского пола две X-хромосомы. С них считываются продукты генов *sis-a* и *sis-b* в двух дозах. У самцов только одна X-хромосома, которая в условиях нефункционирующего механизма дозовой

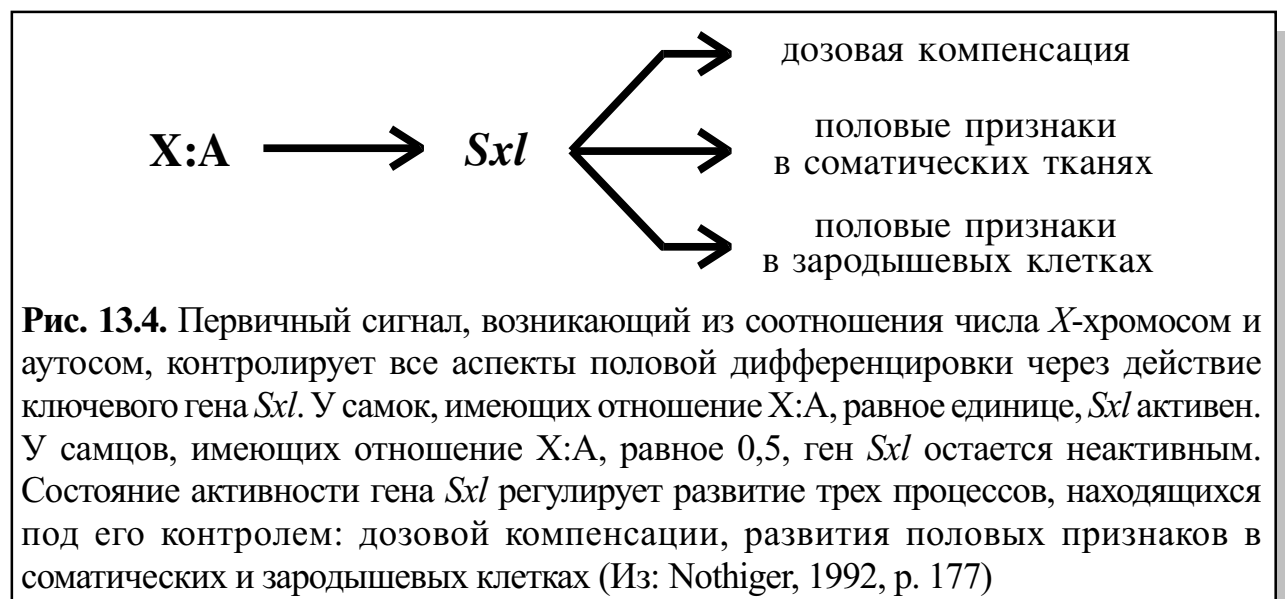


Рис. 13.4. Первичный сигнал, возникающий из соотношения числа X-хромосом и аутосом, контролирует все аспекты половой дифференцировки через действие ключевого гена *Sxl*. У самок, имеющих отношение X:A, равное единице, *Sxl* активен. У самцов, имеющих отношение X:A, равное 0,5, ген *Sxl* остается неактивным. Состояние активности гена *Sxl* регулирует развитие трех процессов, находящихся под его контролем: дозовой компенсации, развития половых признаков в соматических и зародышевых клетках (Из: Nothiger, 1992, p. 177)

компенсации на ранних стадиях развития производит только одну дозу продуктов этих генов. Поэтому комплекс белков *sis/da* имеет отношение составляющих его компонентов 1:2 у самцов или 1:1 у самок. Эти белковые продукты поступают на регуляторную зону ключевого гена, определяющего пол - *Sxl*. Эта зона содержит 2 участка, стимулирующих транскрипцию РНК с данного гена: ранний и поздний промоторы (P_E и P_L) (Рис. 13.5.). Только в том случае если комплексный белок *sis/da* содержит 2 дозы *sis*, он может активировать начало транскрипции с раннего промотора (P_E на Рис. 13.5.).

Это происходит в самом раннем эмбриональном развитии, на стадии

бластодермы. Позднее транскрипция может начаться и с позднего промотора как у *XX/AA*, так и *X/AA* особей. Но результаты включения транскрипции с каждого из этих промоторов будут разными. Рассмотрим их (Рис. 13.6.).

Ген *Sxl* содержит 8 участков, кодирующих последовательность аминокислот (1-8 на Рис. 13.6.) - экзонов, разделенных некодирующими районами (Рис. 13.6.). У самцов ($X:A=0.5$) при активировании позднего промотора (P_L) считывается третий экзон (Рис. 13.6.A), содержащий большое число кодонов UGA, после каждого из которых трансляция останавливается, и белок получается усеченным. В отсутствие нормального функционального белка

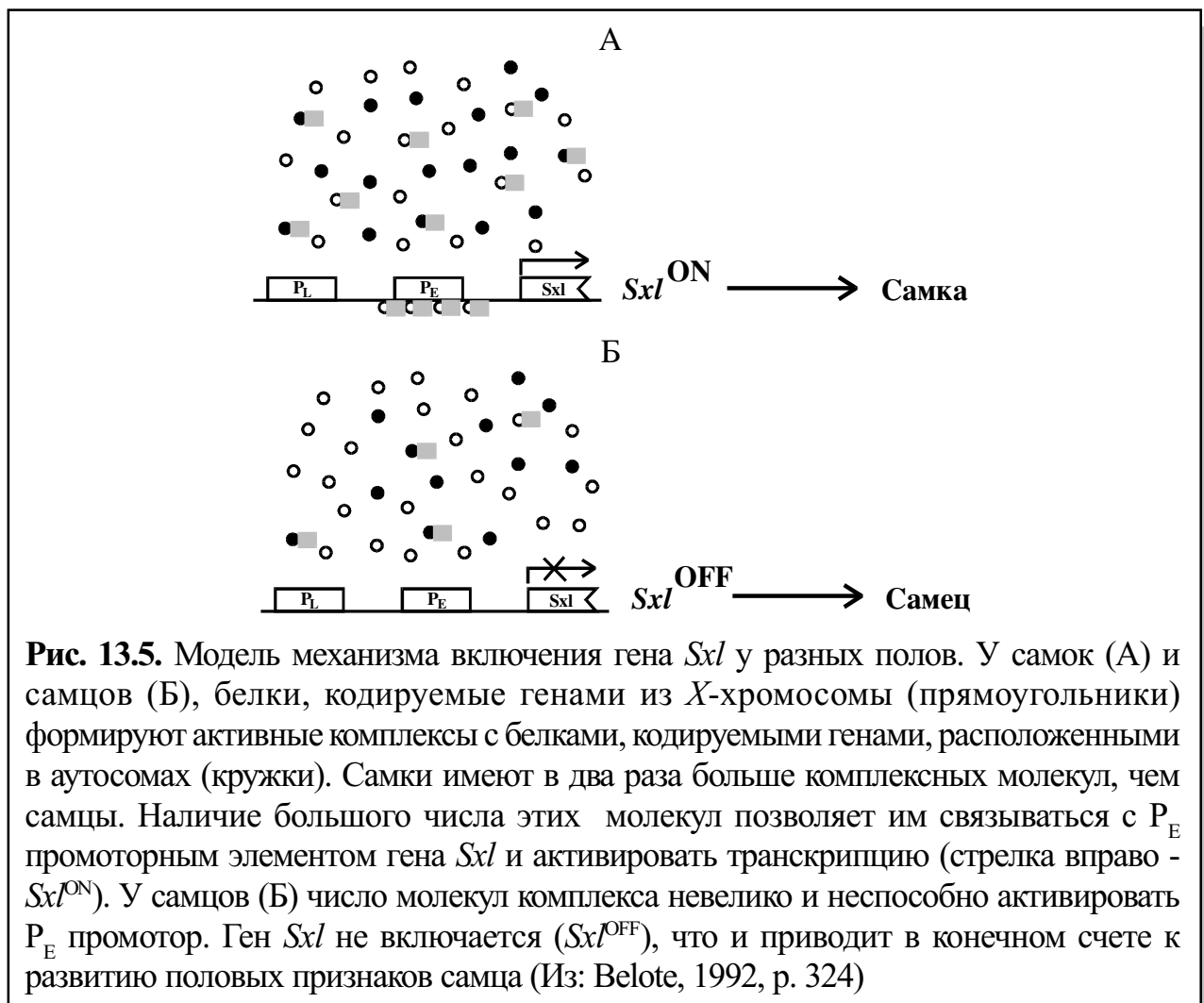


Рис. 13.5. Модель механизма включения гена *Sxl* у разных полов. У самок (А) и самцов (Б), белки, кодируемые генами из *X*-хромосомы (прямоугольники) формируют активные комплексы с белками, кодируемыми генами, расположенными в аутозомах (кружки). Самки имеют в два раза больше комплексных молекул, чем самцы. Наличие большого числа этих молекул позволяет им связываться с P_E промоторным элементом гена *Sxl* и активировать транскрипцию (стрелка вправо - *Sxl*^{ON}). У самцов (Б) число молекул комплекса невелико и неспособно активировать P_E промотор. Ген *Sxl* не включается (*Sxl*^{OFF}), что и приводит в конечном счете к развитию половых признаков самца (Из: Belote, 1992, p. 324)

гена *Sxl*, ген *tra*, расположенный далее в данном каскаде, также функционирует неправильно, опять же давая короткую нефункциональную молекулу белка (трансляцию блокирует кодон UAG во втором экзоне - см. Рис. 13.6.A). Хотя белок другого гена - *tra2* (см. Рис. 13.6.) - присутствует у обоих полов, он не формируется до нормального состояния в отсутствие функционального продукта гена *tra*. Более того, в отсутствие нормальных продуктов генов *tra* и *tra2*, формируется особый dsx^M (самцовый) белок, считанный с определенного набора экзонов (см. Рис. 13.6.A). Такой белок репрессирует развитие признаков женского пола. В результате нарушений в каскаде этих генов, развитие направляется в сторону формирования признаков самца.

У самок ($X:A=1$) транскрипт гена *Sxl* не содержит экзона номер 3 со стоп-кодоном, в результате чего формируется полноценный белок *Sxl*, взаимодействующий с геном *tra*, который, взаимодействуя с белком гена *tra2*, регулирует образование специфической для самок РНК dsx^F (см. Рис. 13.6.B). Наличие специфического для самок продукта dsx^F способствует вовлечению в данный каскад гена *ix*. Белки генов dsx^F и *ix* инактивируют многие гены, которые могли бы привести к формированию самцов, и в конечном итоге формируется самка.

По этой схеме формируются внешние (соматические) половые признаки.

13.4. Определение пола у млекопитающих

При определении пола у млекопитающих Y-хромосома играет

решающую роль. Известно, что XX и XY - соотношения половых хромосом приводят к образованию нормальных женской и мужской особей, соответственно. Однако, при отсутствии Y-хромосомы формируется особь женского пола при любом числе X-хромосом. Особь X0 развивается главным образом по женскому типу, но имеет ряд отличий от нормы, известных под названием "синдром Тернера" (Приложение 13.1).

При наличии трех или даже четырех X-хромосом, но в присутствии Y-хромосомы формируется мужской тип тела, правда тоже с отклонениями, известными под названием "синдрома Клайнфельтера" (Приложение 13.2.).

Уже в самых первых актах детерминации гонад у самцов млекопитающих необходима активность Y-хромосомы, точнее сцепленного с ней тестис-определяющего фактора (testis-determining factor - TDF). Этот фактор был идентифицирован в результате анализа транслокаций небольших фрагментов Y-хромосомы на X-хромосому, в результате чего формировались особи с инверсией пола - самцы XX и самки XY. Такие отклонения встречались у отдельных особей - представителей 17 семейств. Инвертированные самцы мышей XX^{Sxr} в X-хромосомах имеют перенесенные из Y-хромосомы небольшие фрагменты. Они обладают тестисами, но их репродуктивная система дефектна из-за аномалий сперматогенеза.

В 1990 году было установлено, что у человека фактор TDF это не что иное как ген SRY (Sexdetermining Region Y gene), который располагается в коротком плече Y-хромосомы во фрагменте длиной 35 т.п.н.

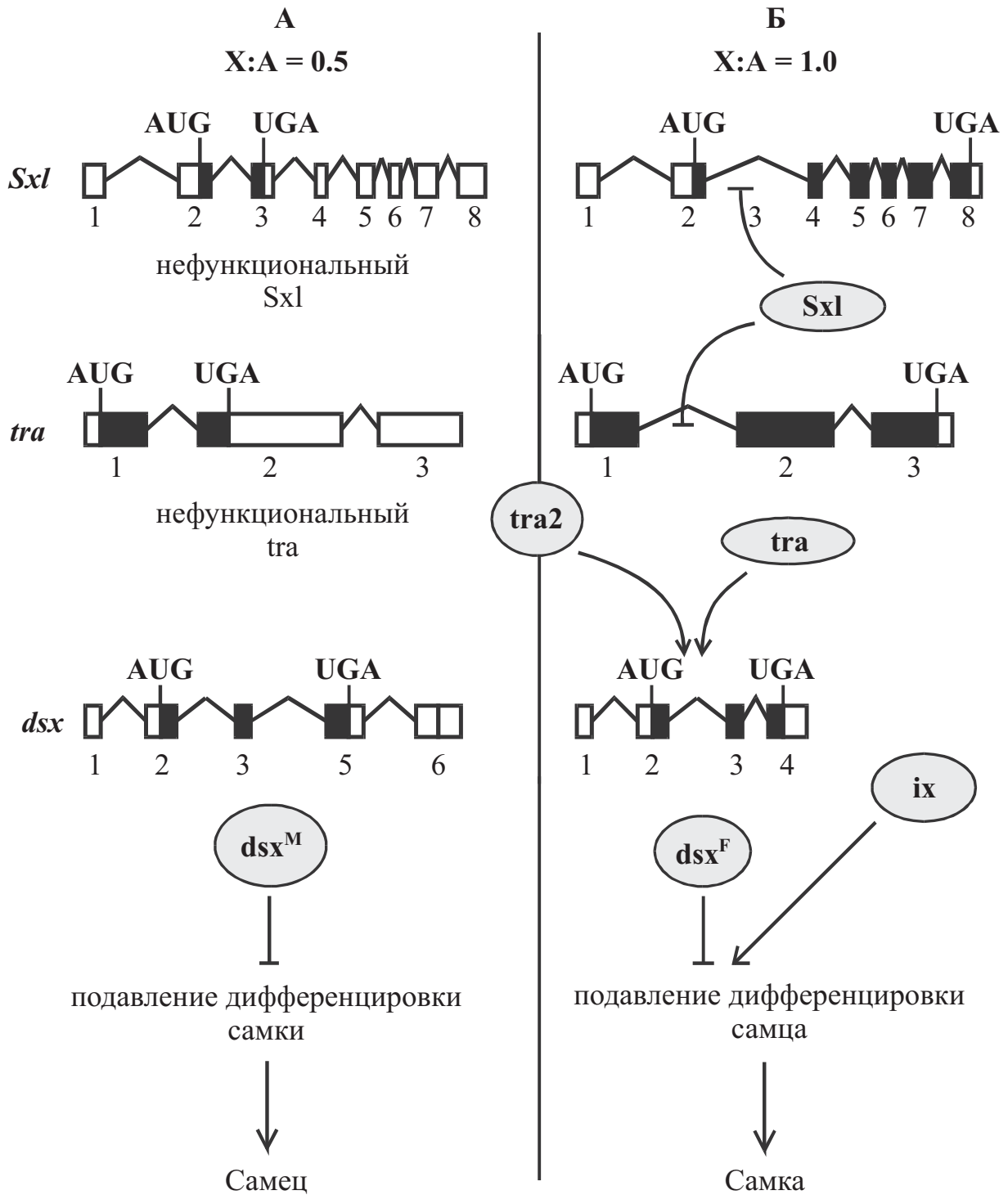


Рис. 13.6. Каскад генных взаимодействий, приводящих к формированию соматических половых признаков самца (А) и самки (Б) (Из: Belote, 1992, р. 327). В каскад вовлечены гены *Sxl*, *tra*, *tra2*, *ix* и *dsx*. Прямоугольники с цифрами обозначают кодирующие части генов - экзоны. Зачерненные части экзонов представляют собой участки, кодирующие аминокислоты. Зигзагами показаны интроны

Ген SRY содержит консервативный домен (HMG-бокс), кодирующий фрагмент белковой молекулы размером 80 аминокислотных остатков. Белковый комплекс, кодируемый HMG-боксом, специфически связывается с ДНК, приводя к изгибанию её молекулы. Такая деформация структуры ДНК, индуцируемая SRY-белком или родственными ему молекулами (известно более 100 белков с HMG-доменом), может механически передаваться на достаточно большое расстояние и играть важную роль в регуляции транскрипции, репликации и рекомбинации.

Только HMG-бокс является консервативной частью гена SRY. За пределами этой последовательности обнаружены существенные различия между гомологичными генами даже у близких видов. Например, у человека этот ген имеет небольшой размер, не содержит интронов и кодирует белок размером в 204 аминокислотных остатка. Его гомолог, выделенный из генома мыши содержит уже 395 аминокислот.

Кроме гена SRY Y-хромосома содержит несколько генов, необходимых для сперматогенеза.

13.5. Компенсация дозы генов

Как уже было отмечено выше, в генетическом смысле оба пола как у дрозофилы, так и у млекопитающих различаются только числом и составом половых хромосом. При этом у самцов гены, локализованные в X-хромосоме, представлены в одной дозе, а у самок - в двух. Если бы X-хромосомные гены функционировали с одинаковой интенсивностью, количество продуктов этих генов у самок было бы вдвое больше, чем у самцов. Однако, этого не происходит.

Существуют механизмы компенсации дозы генов. Разумно а priori предположить, что для уравнивания интенсивности функционирования X-хромосомных генов можно заставить их функционировать вдвое интенсивнее у самцов, или же инактивировать одну из X-хромосом у самок. Природа использовала оба механизма. У дрозофилы дополнительно активируется единственная X-хромосома самца до уровня двух X-хромосом самки, а у млекопитающих инактивируется одна X-хромосома, в результате чего уровень экспрессии у самок уменьшается до уровня единственной X-хромосомы самца.

13.5.1. Компенсация дозы генов у дрозофилы

Основные открытия в области дозовой компенсации у дрозофилы были сделаны в результате анализа политенных хромосом слюнных желез личинок. У самцов (XY) единственная политенная X-хромосома должна бы быть наполовину тоньше чем две спаренные аутосомы или две спаренные X-хромосомы у самки. Однако, на цитологических препаратах она тоньше только на 25% и выглядит значительно более разрыхленной, чем остальные хромосомы и X-хромосомы у самки (Рис. 13.7.). Вообще известно, что разрыхленность структуры хромосом связана с более активной транскрипцией в них. Компактный материал транскрипционно неактивен, декомпактизованный разрыхленный материал обнаруживает высокую активность в синтезе РНК.

Уже первые эксперименты показали, что в единственной политенной X-хромосоме самца количество негистоновых белков примерно в 1,5 раза больше, чем было бы в одной X-

хромосоме самки. Разрыхленность структуры и обогащенность негистоновыми белками является структурной основой для дозовой компенсации. Действительно, интенсивность транскрипции в одной X-хромосоме самца в два раза выше, чем в одной X-хромосоме самки.

Оказалось, что существует целый механизм, контролирующий формирование разрыхленной структуры единственной X-хромосомы самца. Выделены продукты 4-х генов: *msl-1*, *msl-2*, *msl-3* и *mle* (MSL-белки), участвующих в этом процессе. Все четыре MSL белка образуют комплекс и связываются с сотнями участков X-хромосомы самца, обеспечивая диффузность ее структуры. Присутствие в комплексе каждого из MSL белков необходимо для нормального функционирования всего комплекса.

В белке MSL-2 был обнаружен особый участок, имеющий способность интенсивно связываться с ДНК и называемый ринг-фингером, MSL-3 белок по-видимому имеет другой активный участок - "хромо-домен" - особенность, характерную для белков, связывающихся с хроматином. Кроме MSL белков в этом процессе участвуют молекулы других белков - гистонов H4. Гистоны обычно выполняют обратную функцию - в комплексе с молекулой ДНК они образуют нуклеосомы, в составе которых ДНК упаковывается более плотно и становится более компактной. Гистоны H4, декомпактизирующие X-хромосому, отличаются от гистонов H4, компактизирующих ДНК тем, что они модифицированы: аминокислота лизин, находящаяся в 16 положении в молекуле H4, у них ацетилирована, т.е. содержит ацетильный остаток. Оказалось, что такие

модифицированные, или H4Ac16, гистоны в хромосомах локализуются в тех же самых районах, что и MSL белки (см. Рис. 13.7.).

Предполагают, что белки MSL взаимодействуют регуляторными элементами хромосом, контролируя транскрипцию и структуру хроматина. Молекулярный анализ гена *mle* показал, что он имеет гомологию с известными ранее генами, участвующими в расплетании двух цепей ДНК - процесса, необходимого для транскрипции (фермент геликазы).

Белки MSL обладают другой особенностью. Недавно удалось показать, что антитела, выработанные на белки MSL у *Drosophila melanogaster* связываются также с X-хромосомами самцов других видов двукрылых насекомых. Это свидетельствует о том, что все белки, участвующие в дозовой компенсации, высоко консервативны, а сам механизм дозовой компенсации возник в эволюции очень давно.

Дозовая компенсация у дрозофилы контролируется тем же геном *Sxl*, который осуществляет и общий контроль за развитием пола. Нормальный белок гена *Sxl* предотвращает дозовую компенсацию у самок, не позволяя белкам MSL расположиться на их X-хромосомах. В случае мутации гена *Sxl*, белки MSL появляются в X-хромосомах самок (Рис. 13.7.В), нарушая тем самым весь процесс дозовой компенсации.

Полагают, что белок гена *Sxl* взаимодействует в первую очередь с геном *msl-2* (Рис. 13.8.):

У самок, у которых отношение числа X-хромосом к числу аутосом составляет 1, ген *Sxl* находится во "включенном" состоянии (см. выше) и

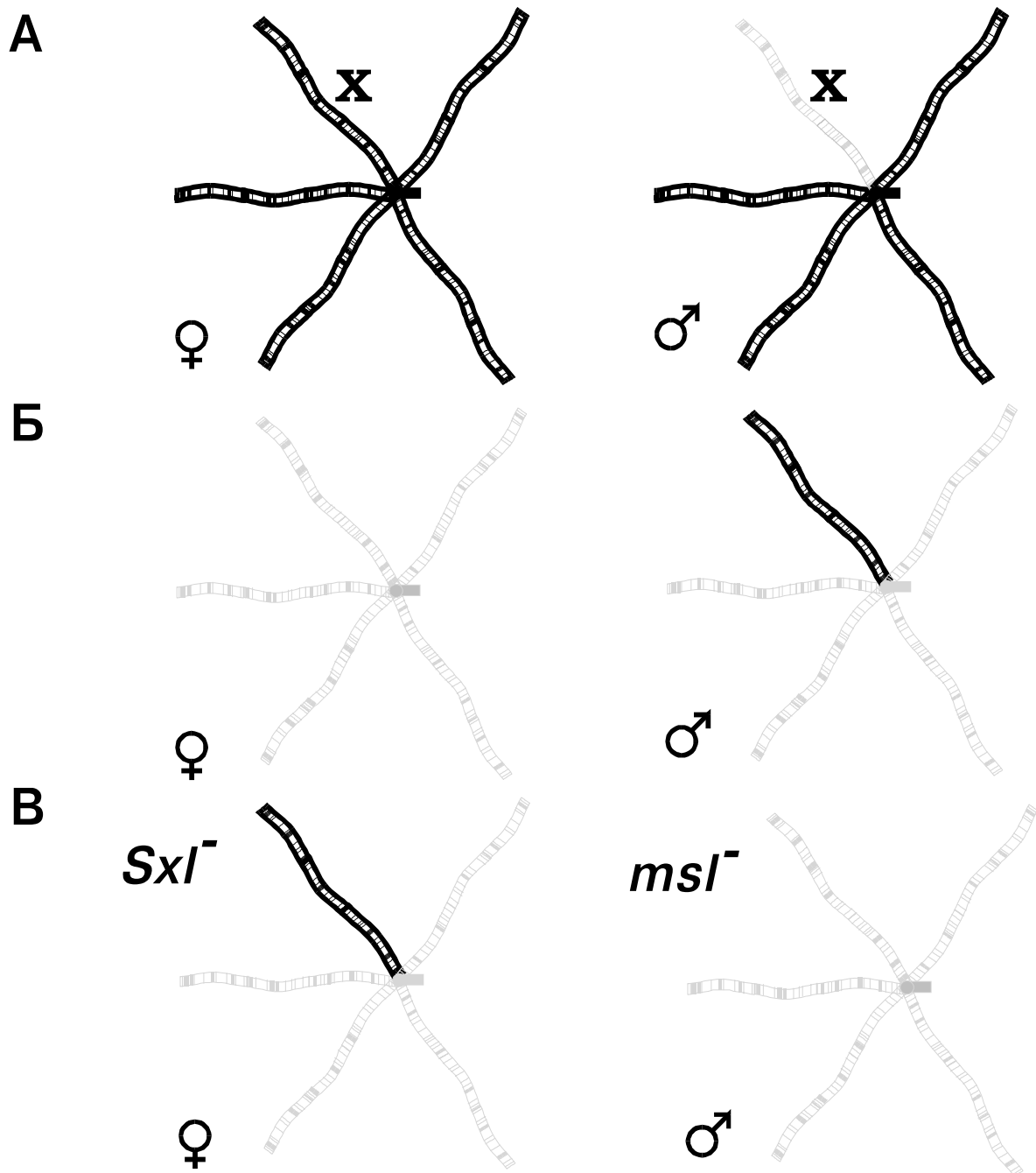


Рис. 13.7. Морфология (А) и присутствие специфических белков (Б) в *X*-хромосомах у самцов и самок дрозофилы, а также изменение этих свойств (В) у мутантов по генам, влияющим на развитие пола (Из: Henikoff, Meneely, 1993, р. 1). **А.** У самок все политенные хромосомы кариотипа, включая *X*-хромосому, имеют одинаковую степень разрыхленности. У самцов *X*-хромосома выглядит значительно более диффузной, чем остальные хромосомы у самцов и все хромосомы у самок. **Б.** Белок, кодируемый геном *mle*, а также гистоны H4, ацетилированные по лизину в 16 положении, выявляется только в *X*-хромосоме самца. **В.** У мутантов, влияющих на развитие половых признаков, изменяется распределение белков *mle*. Так, у мутантов *Sxl* белок *mle* появляется в *X*-хромосомах самок, чего никогда не наблюдается в норме. Мутация гена *msl* приводит к отключению дозовой компенсации в *X*-хромосоме самца из-за отсутствия в ней белка *mle*

он подавляет трансляцию мРНК гена *msl-2*. Небольшой интрон в 5'-нетранскрибируемом районе (UTR на Рис. 13.8.) удаляется в транскрипте гена *msl-2* у самца, но сохраняется в транскрипте самки. Таким образом белок гена *Sxl* непосредственно контролирует альтернативный сплайсинг этого интрона. В гене *msl-2* есть ещё один сайт связывания с белком *SXL* - на 3'-конце (3'UTR на Рис. 13.8.). Непонятно каким образом всё это влияет на трансляцию гена *msl-2* у самки, тем не менее продукт гена

msl-2 не поступает в ядро. В его отсутствие, другие белки *msl* не способны ассоциировать с X-хромосомами, ацетилированные формы гистонов H4Ac16 не накапливаются, и X-хромосома самки не становится сверхактивной в транскрипции (см. Рис. 13.8.).

У самцов, где отношение X-хромосом и аутосом составляет 0,5, ген *Sxl* выключен (см. выше). В отсутствие белка *Sxl* ген *msl-2* экспрессируется полностью, и весь набор белков MSL ассоциируется с X-хромосомой самца.

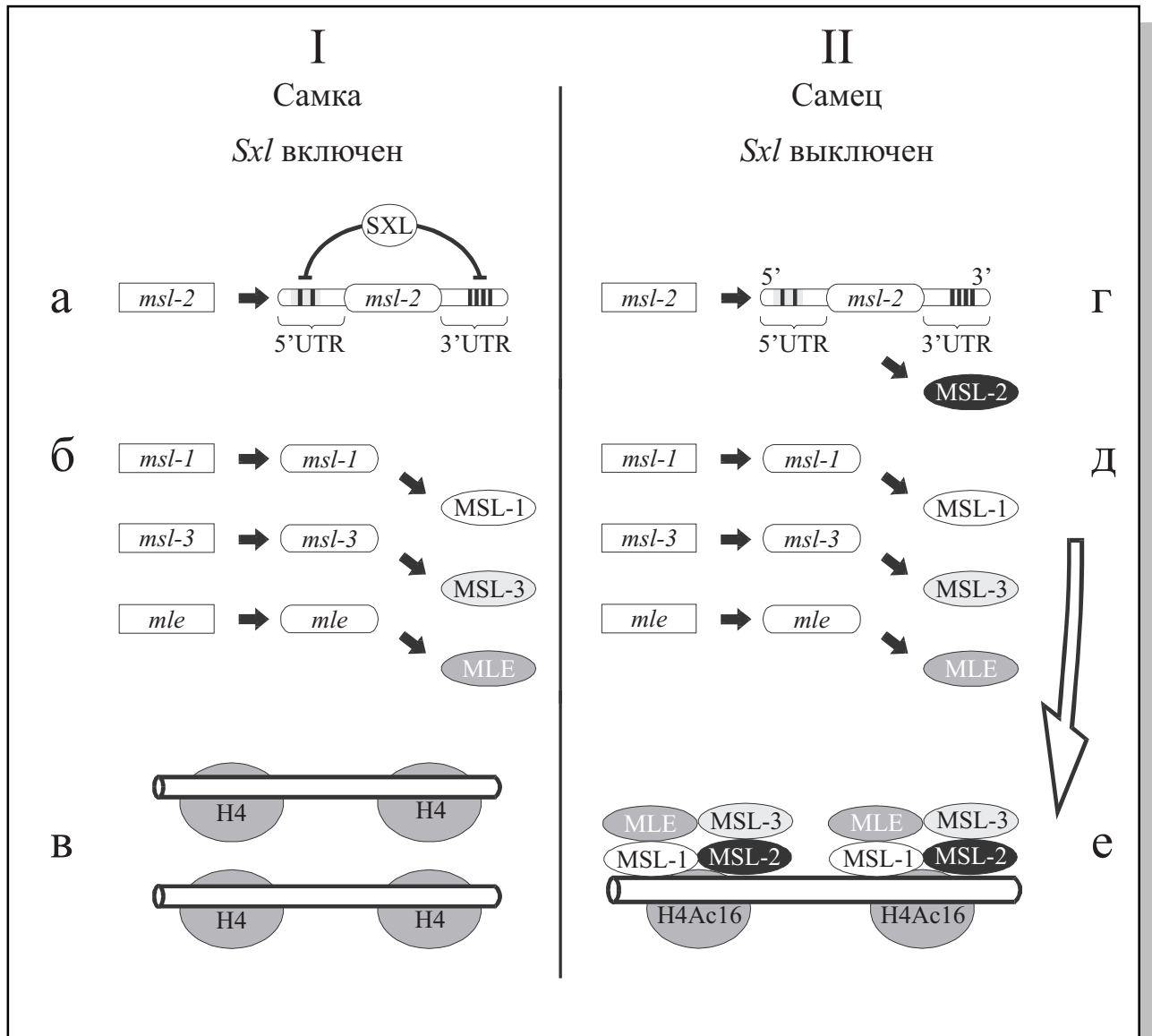
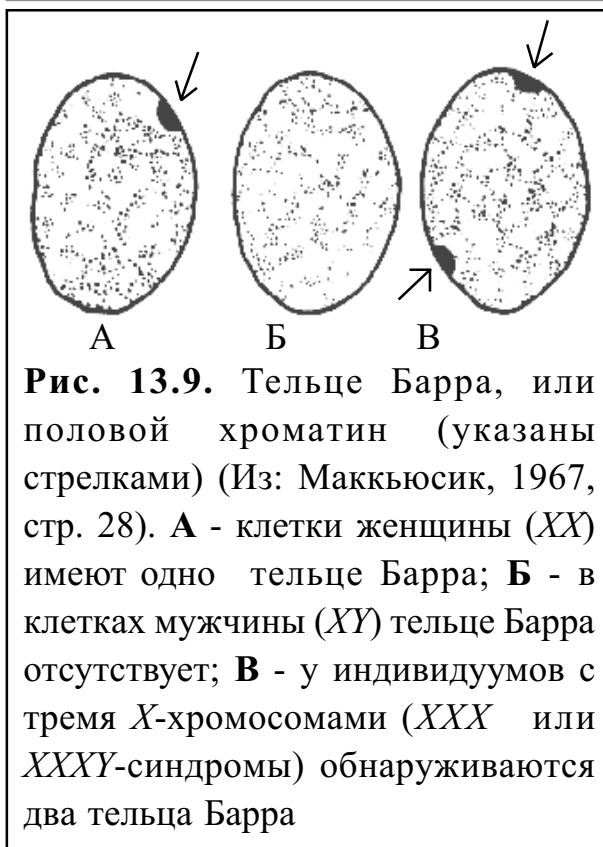


Рис. 13.8. Схema регуляции дозовой компенсации у дрозофилы (Из: Bashaw, Baker, 1996) (см. детали в тексте)



В результате происходит и ацелирование гистонов H4, и как следствие, изменение структуры хроматина с последующей гиперактивацией транскрипции.

13.5.2. Компенсация дозы генов у млекопитающих

Как уже было отмечено выше, дозовая компенсация у млекопитающих происходит в результате инактивации одной из X-хромосом у самок.

В 1949 году М. Барр обнаружил компактные глыбки хромосомного материала в ядрах нервных клеток у кошек, у котиков таких глыбок не было. По имени исследователя эти структуры были названы тельцами Барра. Через 10 лет С. Оно пришел к выводу, что тельце Барра формируется из одной X-хромосомы в каждой соматической клетке у самок млекопитающих (Рис. 13.9.).



Рис. 13.10. Мэри Ф. Лайон

В 1961 году М. Лайон (M. Lyon, Рис. 13.10.) сделала вывод о том, что дозовая компенсация генов, локализованных в X-хромосомах млекопитающих осуществляется за счёт инактивации одной из двух родительских хромосом в каждой соматической клетке самки.

Процесс инактивации X-хромосом у самок млекопитающих был назван лайонизацией. Лайонизация X-хромосомы происходит в раннем эмбриональном развитии. Инактивированная X-хромосома гетерохроматизирована и транскрипционно неактивна на протяжении всего клеточного цикла; она реплицируется в поздней S-фазе, позже аутосом и активной X-хромосомы. Таким образом, одна из X-хромосом самок млекопитающих приобретает компактное состояние и инактивируется,

в результате чего число доз X -хромосомных генов у самцов и самок уравнивается и составляет одну дозу.

Оказалось, что в X -хромосомах млекопитающих существует особый центр инактивации (ХИС - *X chromosome inactivation center*). Инактивация инициируется в единственном центре инактивации ХИС и затем прогрессивно распространяется вдоль всей длины X -хромосомы. Она происходит по закону "все или ничего". Установившись однажды в эмбриогенезе, неактивное состояние X -хромосомы передаётся дочерним клеткам во всех последующих клеточных генерациях. В пользу существования особого и единого центра инактивации X -хромосомы свидетельствуют два фактора:

- 1) Хромосома инактивируется целиком и только одна из двух.
- 2) Инактивируется только одна часть X -хромосомы, разделенная реципрокной транслокацией. Вторая часть X -хромосомы, отделенная от гипотетического центра не компактизуется.

Более того, в результате изучения различных X -аутосомных транслокаций было найдено, что только одна часть X -хромосомы, разделённая реципрокной транслокацией, способна инактивировать примыкающие аутосомные локусы.

Картируя таким образом многие транслокации, удалось локализовать центр инактивации на карте митотических хромосом человека и мыши. В этом центре расположен ген *Xist* (*X-inactivated-specific transcript*). Этот ген обладает рядом необычных особенностей: транскрипция его связана только с неактивной X -хромосомой самки, РНК гена *Xist* не находят у самцов и особей $X0$, имеющих только одну (активную) X -хромосому. Внутри клетки РНК *Xist* не находят ни в цитоплазме в целом, ни в рибосомах. Это свидетельствует о том, что данный ген не кодирует белок и его РНК не транслируется. Вместе с тем, РНК гена *Xist* легко выявляется в клеточном ядре, а именно в тельце Барра. Большинство исследователей предполагает, что эта РНК участвует непосредственно в процессах инактивации X -хромосомы.

Ген *Xist* у человека занимает около 45 т.п.н. геномной ДНК, однако суммарная длина его 8 экзонов составляет только 16,5 т.п.н. (Рис. 13.11.).

Показано наличие альтернативного сплайсинга при экспрессии гена *Xist*. Множество выделенных кДНК клонов не содержали экзонов N4 или 6i, реже встречались клоны с отсутствием

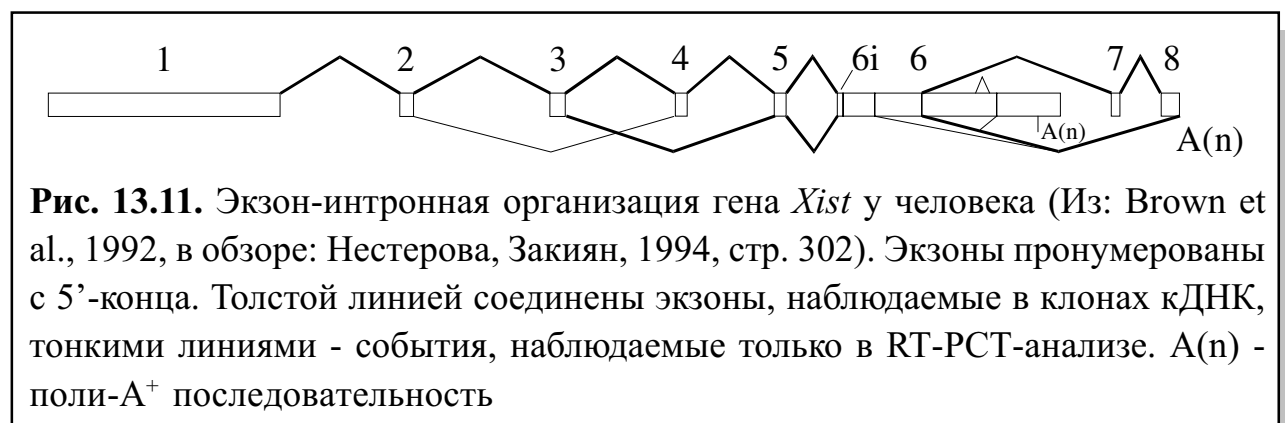


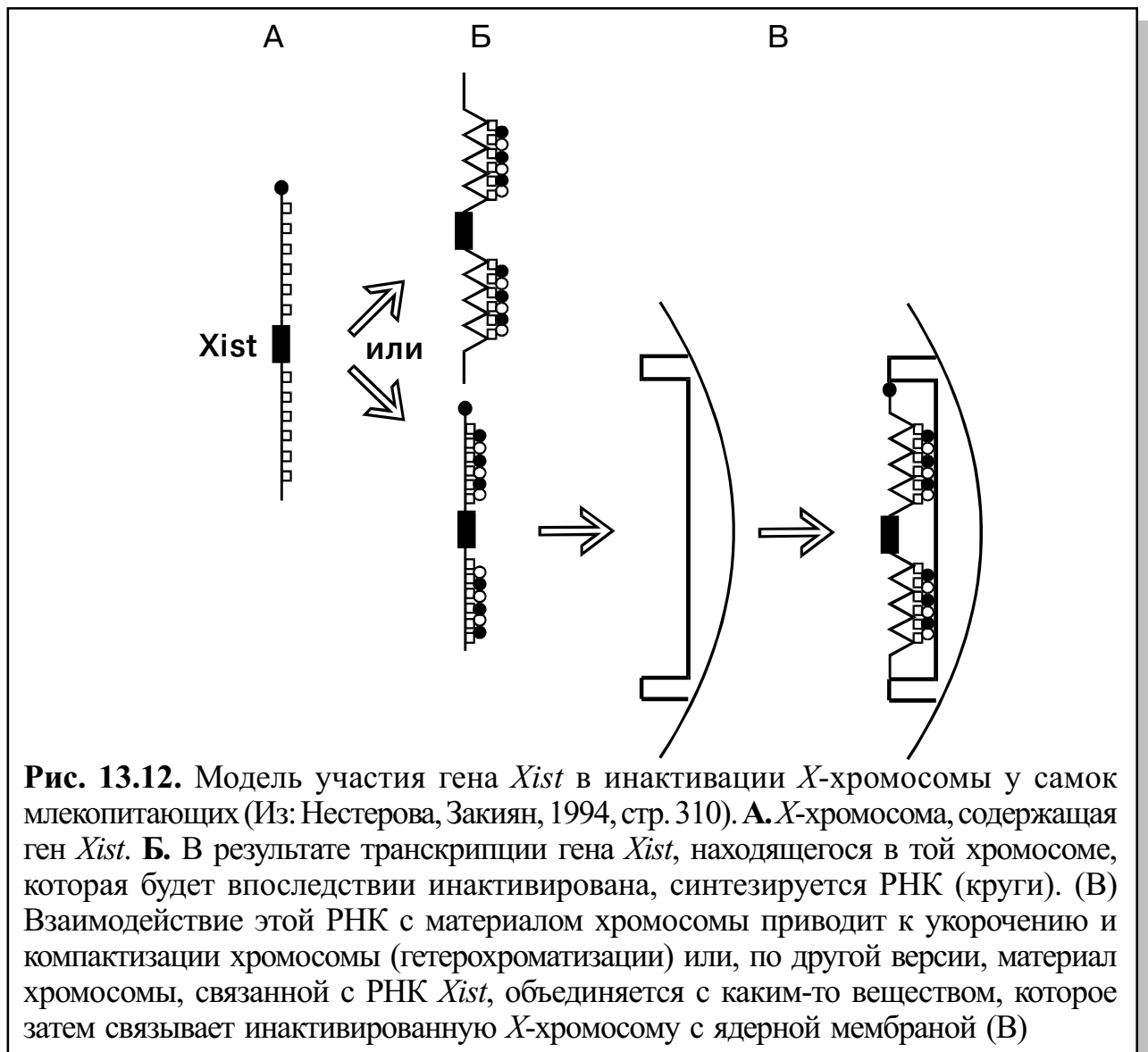
Рис. 13.11. Экзон-интронная организация гена *Xist* у человека (Из: Brown et al., 1992, в обзоре: Нестерова, Закиян, 1994, стр. 302). Экзоны пронумерованы с 5'-конца. Толстой линией соединены экзоны, наблюдаемые в клонах кДНК, тонкими линиями - события, наблюдаемые только в RT-ПСТ-анализе. $A(n)$ - поли- A^+ последовательность

других экзонов. Данные Нозерн-блот анализа позволили обнаружить еще один любопытный факт: сигнал гибридизации выявлялся не в виде дискретных полос, а был представлен непрерывным мазком, указывающим на наличие многочисленных транскриптов гена *Xist*, которые значительно варьируют по размерам, достигая 10 т.п.н. и выше. Результаты PCR-анализа, предпринятого с целью нахождения стартовой точки транскрипции, выявили несколько транскриптов различной длины, что свидетельствует о гетерогенности в инициации транскрипции гена *Xist* и,

следовательно, о наличии нескольких сайтов инициации. Кроме того, отсутствовал ТАТА-бокс поблизости от этого стартового сайта, хотя блок СААТ был расположен в положении -99. ТАТА-бокс был обнаружен в позиции -39 относительно минорного стартового сайта.

Ген *Xist* был найден у многих млекопитающих. У всех видов в экзонах нет длинных рамок считывания, самая длинная - 483 п.н., т.е. примерно 3% от общей длины экзонов.

Согласно современным представлениям (Рис. 13.12.) РНК *Xist*



(черные кружки на Рис. 13.12.) взаимодействуют локально с хроматином (светлые квадраты той X-хромосомы, с которой инициируется транскрипция *Xist*). Это приводит в результате к компактизации этой хромосомы (зигзаг на Рис. 13.12.) и связыванию ее с ядерной оболочкой в результате чего из одной X-хромосомы у самки млекопитающих формируется компактное образование, называемое половым хроматином или тельцем Барра, происходит инактивация всех генов в этой X-хромосоме и уравнивается число доз X-хромосом у обоих полов.

Результаты, рассмотренные в данном разделе, свидетельствуют об огромных успехах, достигнутых современной генетикой в изучении процессов, определяющих признаки пола. Хотя перевернуты лишь первые страницы в этой увлекательной истории, тем не менее совершенно очевидно, что такие сложные процессы, как формирование половых признаков, определяются простыми взаимодействиями генов.

Литература

Гершензон И. Основы современной генетики. Киев, Наукова Думка, с. 101-135, 1983
 Гершкович И. Генетика. Москва, Наука, с. 110-124, 1968.
 Дубинин Н.П. Общая генетика. Москва, Наука, с. 386-394, 1970.
 Жимулев И.Ф., Хромомерная организация политенных хромосом. Новосибирск, Наука, 1994, 565 с.
 Жимулёв И.Ф. Как гены контролируют развитие пола у дрозофилы.

Соросовский образовательный журнал, N 12, с. 17-22, 1997.
 МакКьюсик В. Генетика человека. Москва, Мир, с. 27-36, 1967.
 Лобашев М.Е. Генетика, Ленинград, изд-во ЛГУ, с. 202-225, 1967.
 Нестерова Т.Б., Закиян С.М. Инактивация X-хромосомы у млекопитающих. Генетика, 1994, Т. 30, N 3, 293-317.
 Прокофьева-Бельговская А.А. (ред.) Основы цитогенетики человека. Москва, Медицина, с. 247-309, 1969.
 Прокофьева-Бельговская А.А. Гетерохроматические районы хромосом. Москва, Наука, 1986, 431 с.
 Смирнов А.Ф. Молекулярно-генетические механизмы первичной детерминации пола у млекопитающих. Соросовский образовательный журнал N1, 26-34, 1997.
 Bashaw G.J., Baker B.S. Dosage compensation and chromatin structure in *Drosophila*. Curr. Opin. Genet. Developm. 6, 496-501, 1996.
 Bridges C.B. Triploid intersexes in *Drosophila melanogaster*. Science, 1921, V. 54, 252-254.
 Belote J.M. Sex determination in *Drosophila melanogaster*: from the X:A ratio to *doublesex*. Seminars in Devel. Biol., 1992, V. 3, 319-330.
 Cline T.W., Meyer B.J. Vive la difference: males vs females in flies vs worms. Annual Rev. Genet. 30, 637-702, 1996.
 Graves J.A.M. The origin and function of the mammalian Y chromosome and Y-borne genes - an evolving understanding. BioEssays 17, 311-321, 1995.

- Henikoff S., Meneely P.M. Unwinding dosage compensation. *Cell*, 1993, V. 72, 1-2.
- Kuroda M., Meller V.H. Transient Xistence. *Cell* 91, 9-11, 1997.
- Lewin B. *Genes*. Oxford, New York, Tokyo; Oxford University Press, p. 1059-1074, 1994
- Lyon M.F. Possible mechanisms of X chromosome inactivation. *Nature New Biol.* 232, 229-232, 1971.
- Lyon M.F. Some milestones in the history of X-chromosome inactivation. *Ann. Rev. Genet.* 26, 17-28, 1992.
- Lyon M.F. X chromosome inactivation: a repeat hypothesis. *Cytogenet. Cell Genet.* V. 80, p. 133-137, 1998.
- Meyer B.J. Sex determination and X chromosome dosage compensation. In: *C. elegans II* (Riddle D.L., Blumenthal T., Meyer B.J., Priess J.R., eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, p. 209-240, 1997.
- Nöthiger R. Genetic control of sexual development in *Drosophila*. *Verh. Dtsch. Zool. Ges.*, 1992, V. 85, N 2, 177-183.
- Panning B., Jaenisch R. RNA and the epigenetic regulation of X chromosome inactivation. *Cell*, V. 93, p. 305-308, 1998.
- Russell P.J. *Genetics*. Fifth edition. Addison Wesley Longman, Inc, Melno Park, California, 1805, p. 67-87, 1998.
- Willard H.F. X-chromosome inactivation, Xist, and pursuit of the X-inactivation center. *Cell* 86, 5-7, 1996.