

Хромосомные инверсии в клетке и в эволюции

П.М.Бородин, А.А.Торгашева

В разных науках инверсиями называют вещи, не имеющие ничего общего друг с другом. Так, в драматургии инверсия — прием, демонстрирующий исход конфликта в начале пьесы. Если мы начнем эту статью словами «Прочитав эту статью, вы поймете, к каким драматическим последствиям может привести поворот куска хромосомы на 180° », это и будет иллюстрацией драматургической инверсии. Но наша статья посвящена не драматическим, а хромосомным инверсиям. Как вы уже догадались, они представляют собой именно повороты кусков хромосом на 180° , поэтому мы начнем с того, что напомним, как устроены хромосомы.

Устройство хромосомы

Хромосома — это комплекс ДНК и белков: ДНК содержит генетическую информацию, необходимую для создания и функционирования организма, а белки упаковывают ДНК, причем неравномерно — одни районы более плотно, чем другие. Кроме того, в ходе клеточного цикла плотность упаковки меняется. Перед началом клеточного деления хромосомы компактизируются.

Каждая хромосома содержит центромеру — особый участок ДНК, к которому прикрепляются специфические белки, а к ним,



Павел Михайлович Бородин, доктор биологических наук, заведующий лабораторией рекомбинационного и сегрегационного анализа Института цитологии и генетики СО РАН, профессор кафедры цитологии и генетики Новосибирского государственного университета. Занимается проблемами эволюционной генетики, генетики мейоза. Лауреат премии им.В.С.Кирпичникова за выдающийся вклад в развитие эволюционной генетики (2004).



Анна Александровна Торгашева, аспирант той же лаборатории, область научных интересов — молекулярная биология мейоза, сравнительная цитогенетика млекопитающих. Лауреат Всероссийского открытого конкурса 2008 г. на лучшую научную работу студентов по естественным, техническим и гуманитарным наукам по разделу «Биологические науки».

в свою очередь, — нити веретена клеточного деления. Концы хромосомы защищены теломерами. Между центромерой и теломерой находится так называемое плечо хромосомы. Положение центромеры определяет тип хромосомы: если центромера на конце хромосомы, она называется акроцентрической, или акроцентриком, а если центромера где-то посередине — метацентрической, или метацентриком (рис.1).

Набор хромосом (кариотип) служит надежной характеристикой видовой принадлежности животных и растений. Постоянство кариотипа и стабильную передачу в ряду клеточных поколений и от родителей к потомкам обеспечивают два замечательно точных процесса — митоз и мейоз соответственно. Митоз проходят в школе и с завидной регулярностью описывают в научно-популярных статьях о хромосомах, поэтому мы

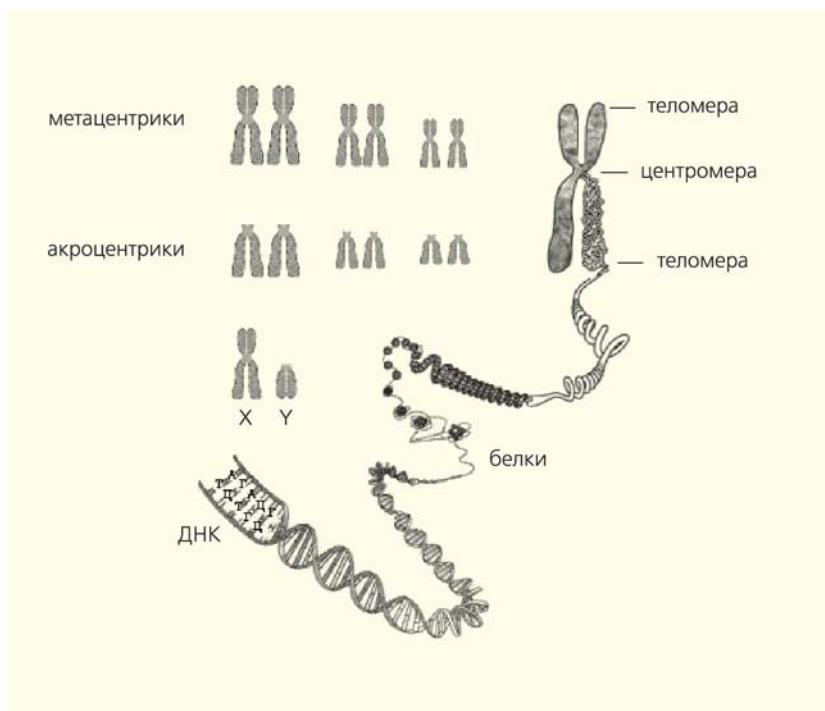


Рис.1. Схема организации хромосомы.

не станем про него говорить. Мейоз тоже проходят в школе, и один из нас только в журнале «Природа» рассказывал о нем по крайней мере три раза, последний раз в статье про рекомбинацию [1]. О современных достижениях в области молекулярной биологии и эволюции мейоза читатель может прочитать в ста-

тье Ю.Ф.Богданова [2]. Однако процесс этот настолько красив и настолько важен для понимания того, как возникают хромосомные инверсии, отчего одни из них вскоре утрачиваются, а другие размножаются в популяциях, т.е. для понимания всей этой статьи, что мы напомним его основные события (рис.2).

Механика мейоза

Перед первым делением мейоза происходят два важных события — синапсис (сближение гомологичных хромосом) и рекомбинация хромосом. Синапсис начинается с того, что концы гомологичных хромосом, скользя по ядерной мембране, собираются в одной точке. Хромосомы, оказываясь поблизости друг от друга, приступают к взаимному опознаванию, которое, видимо, идет в два этапа. Первое приблизительно может происходить по принципу штрих-кодов. Поскольку набор хромосомных белков и характер их связывания с ДНК во многом определяется последовательностью нуклеотидов, каждая хромосома отличается индивидуальным штрих-кодом — специфичным распределением белков. Так как гомологичные хромосомы в основном сходны по последовательностям ДНК, они должны иметь сходные штрих-коды. Значит, грубое распознавание может быть достигнуто простым их совмещением.

Процесс тонкого опознавания и синапсиса хромосом, неразрывно связанный с рекомбинацией, начинается с возникновения множественных двунитевых разрывов в ДНК мейотических

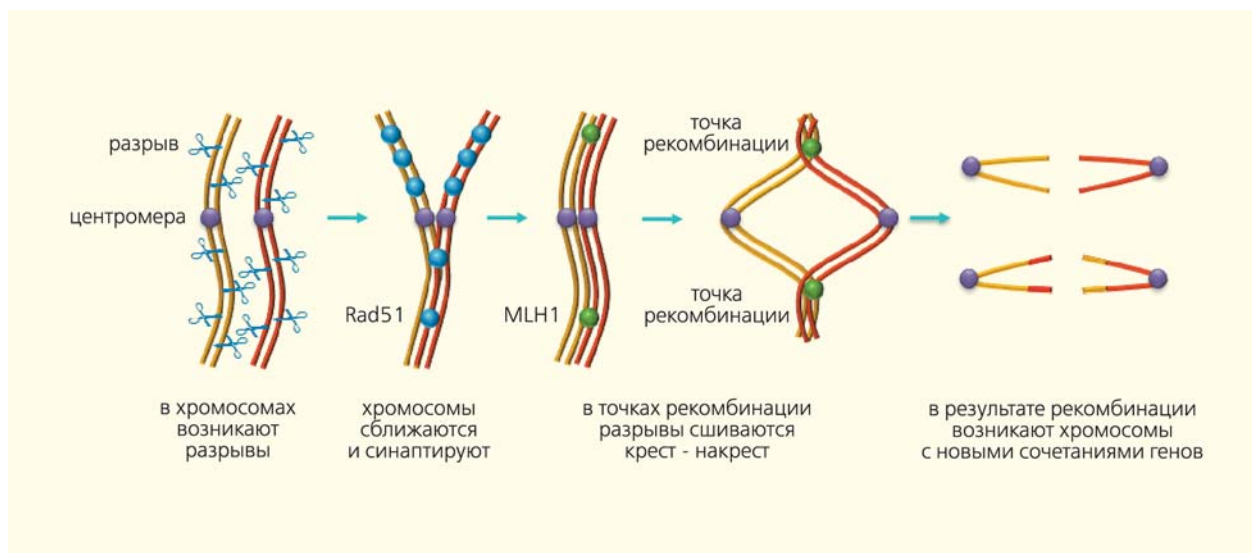


Рис.2. Основные события мейоза. Гомологичные хромосомы обозначены разными цветами.

хромосом. В их соединении активно участвует белок Rad51. Он связывается со свободными концами разорванных ДНК и внедряет их в ДНК гомологичных хромосом, одновременно расплетая ДНК-мишень. Найдя комплементарный участок, внедрившаяся нить ДНК спаривается с ним. Тонкое опознавание заканчивается, когда количество связей между ДНК пары гомологичных хромосом достигает критического уровня. Синапсис инициируется в нескольких точках. Затем хромосомы с помощью белкового комплекса, работающего как застежка-молния, соединяются по всей длине, уже не обращая внимания на гомологию.

Большая часть связей между ДНК, возникших при поиске гомологии, разрезается и сшивается таким образом, что восстанавливается исходное состояние цепей ДНК (безобменный путь). У всех изученных млекопитающих только небольшая часть связей (меньше 10%) сшивается крест-накрест (обменный путь), при этом ДНК одного из гомологов в пункте обмена соединяется с ДНК другого. В этом процессе участвует специфический белок репарации MLH1. Это и есть точки рекомбинации, в которых происходит переключение с одного гомолога на другой. В мейоз хромосомы вступили в таком виде, в каком были получены от родителей, а выйдут они из мейоза уже рекомбинантными. В материнской хромосоме будет часть отцовской, а в отцовской — часть материнской.

Изготовление инверсии

Как ни удивительно, но в абсолютном большинстве половых клеток синапсис хромосом происходит очень точно: ген к гену. Однако мы хорошо знаем, что гены — это минорный компонент геномов млекопитающих. В основном хромосомы наполнены повторенными последовательностями, в том числе мо-

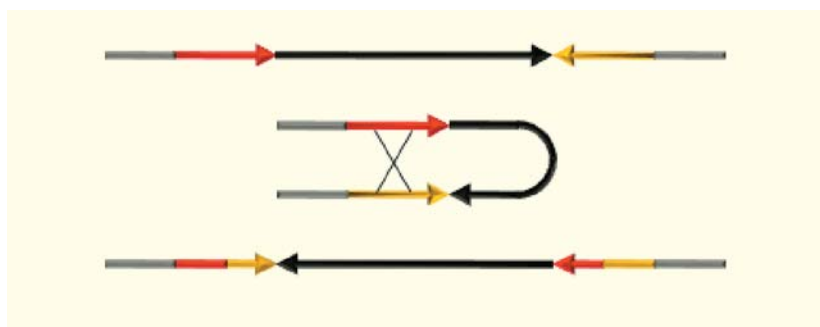


Рис.3. Схема образования инверсии путем рекомбинации в повторенных последовательностях по [3]. Черным цветом обозначен участок инверсии, красным и желтым — повторенные последовательности в противоположной ориентации. Если такие последовательности сблизятся, между ними может произойти гомологичная рекомбинация — разрезание и сшивание крест-накрест. В результате участок, расположенный между повторенными последовательностями, повернется на 180°.

бильными генетическими элементами, которые способны копироваться и встраиваться в разные участки генома. Эти элементы могут служить источником многих неприятностей, в том числе быть причиной хромосомных инверсий.

Если в одной и той же хромосоме находятся два одинаковых, но противоположно ориентированных мобильных элемента, между ними возможна гомологичная рекомбинация. Результатом такой эктопической (т.е. произошедшей в неполенном месте) рекомбинации будет поворот участка, лежащего между этими элементами, на 180° — т.е. хромосомная инверсия (рис.3). Если этот участок включает в себя центромеру, инверсия называется перичентрической, если нет, то парацентрической.

Проверка на пригодность

Как только инверсия возникла, естественный отбор начинает проверять ее на пригодность. Первый тест, который проходит любая мутация (а инверсия — это хромосомная мутация), — это проверка на совместимость с жизнью. Большинство инверсий совместимы, более того, они не сильно-то и сказываются на жизнеспособности носителей. И это хорошо. Как мы зна-

ем, эволюция идет путем суммирования мелких фенотипических изменений.

В случае инверсий такие фенотипические изменения, как правило, обусловлены тем, что меняются генные соседства. Это явление обнаружили еще в начале прошлого века и назвали его эффектом положения, механизмом которого мы теперь понимаем. Мы знаем, что время, место, интенсивность и продолжительность работы генов в сильной степени зависят от генетических регуляторов (энхансеров, сайленсеров, инсуляторов и др.), расположенных неподалеку в той же хромосоме. Инверсии могут переносить структурные гены из зоны действия своих регуляторов и/или подставлять их под действие чужих.

Если вновь возникшая инверсия не сказывается на жизнеспособности носителя или слегка ее повышает, такой носитель имеет шансы произвести потомков, которые понесут эту инверсию дальше. Но прежде инверсия должна попасть в гаметы, т.е. пройти проверку мейозом. Это довольно сложная задача.

Проверка на совместимость

У гетерозигот по инверсии в мейотической клетке одновременно присутствуют и нормаль-

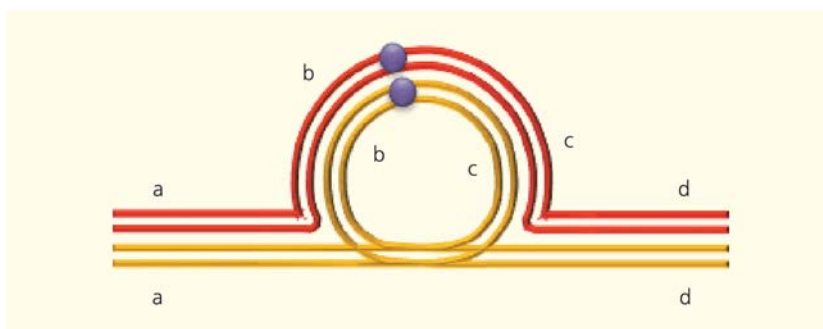


Рис.4. Инверсионная петля, которая возникает при полностью гомологичном синапсисе у гетерозигот по инверсии. Буквами обозначено положение гомологичных участков хромосом. Видео модель этого процесса представлена в Интернете (<http://meiosis.bionet.nsc.ru/media/line1.avi>).

ная хромосома, и хромосома с инвертированным участком. У них инвертированный участок и соответствующий ему участок нормальной хромосомы ориентированы противоположно, поэтому гомологичным участкам найти друг друга довольно сложно. А сформировать полностью гомологично спа-

ренный и при этом линейный бивалент и вовсе невозможно. Выйти из этого положения помогает образование нелинейной конфигурации — инверсионной петли (рис.4).

Однако не всем гетерозиготам и не всегда удастся сформировать такую структуру. Для этого необходимо, чтобы синапсис

инициировался как минимум в трех точках: в пределах инвертированного участка и по обе стороны от него. Вероятность того, что это произойдет, зависит от морфологии инвертированного участка, позиций границ инверсии, конкретного генотипа. Однако ключевыми факторами оказываются размер и положение инверсии: чем она больше, тем больше вероятность образования петли. Так, гетерозиготы по небольшим перичентрическим инверсиям практически никогда не формируют петлю. Вместо этого образуются обычные линейные биваленты, но с негомологично спаренным районом. В этих случаях синапсис инициируется с одной или с обеих сторон инвертированного участка, который затем «застегивается» негомологично.

В негомологичном синапсисе нет ничего плохого, он не снижает жизнеспособность клетки, напротив, позволяет избегать проблем, с которыми сталкиваются биваленты с инверсионными петлями. Мы их обсудим чуть позже.

Что очень опасно для клетки — это асинапсис (т.е. неспособность хромосомы спариться с гомологом). И это понятно. Контролеры клеточного цикла строго следят за тем, чтобы все хромосомы спаривались полностью. Неважно как — гомологично или негомологично, важно, чтобы полностью. Все клетки, в которых обнаруживаются неспаренные хромосомы, самоликвидируются путем апоптоза.

Как правило, в случае простой гетерозиготности по инверсиям асинапсис не возникает. Образуется либо гомологично спаренный бивалент с петлей, либо прямой бивалент с негомологичным синапсисом в районе инверсии. Однако у сложных гетерозигот, когда в одной клетке имеются две разные инверсии одной и той же хромосомы, попытки синапсиса, как правило, заканчиваются неудачей.

Мы получили такие сложные гетерозиготы в лаборатории.

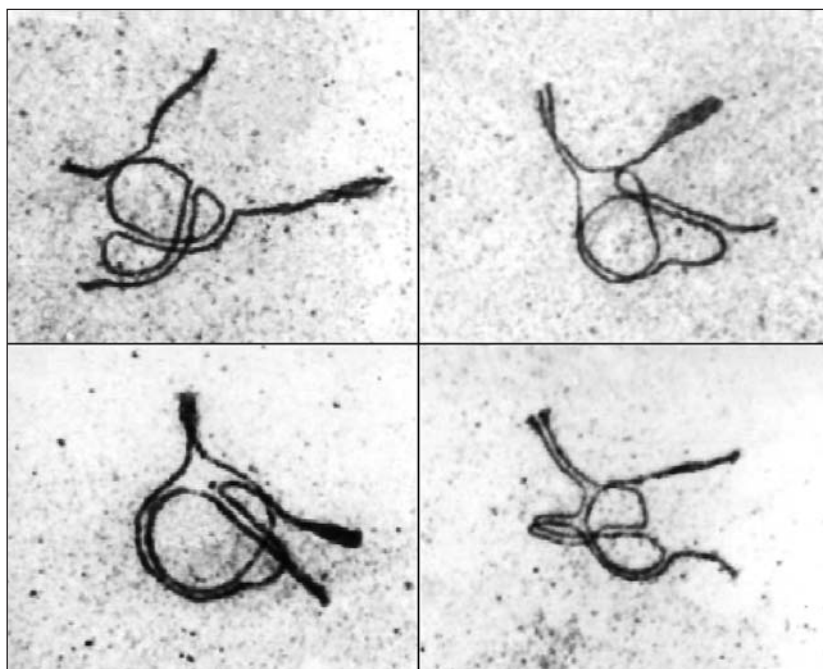


Рис.5. Электронные микрофотографии синаптонемного комплекса первой хромосомы мышей, гетерозиготных по двум различным инверсиям. Гомологичные хромосомы в мейозе связываются с помощью специальной белковой структуры — синаптонемного комплекса. Гетерозиготы по двум разным инверсиям пытаются преодолеть сложности с гомологичным спариванием и формируют различные синаптические конфигурации. Как правило, при этом остаются довольно но протяженные участки асинапсиса — неспаренные районы хромосом.

Для этого скрестили мышей, гомозиготных по разным инверсиям в хромосоме 1. Хромосомы честно пытались спариться, хоть гомологично, хоть негомологично. Но это им не удалось. В подавляющем большинстве наблюдались большие зоны асинapsиса, и такие клетки неизбежно гибли (рис.5). Наши сложные гетерозиготы оказывались полностью стерильными [4].

Отсюда следует занятный сценарий видообразования. Допустим, есть две географически изолированные популяции. В каждой из них возникает и успешно проходит проверку на жизнеспособность и совместимость своя инверсия. В каждой популяции инвертированные хромосомы распространяются и замещают нормальные варианты хромосом. После этого ареалы двух популяций смыкаются, становится возможной гибридизация, но гибриды ока-

зываются стерильными. Судя по всему, такой сценарий не раз использовался при видообразовании у комаров, дрозофил и других животных.

Запирание рекомбинации

Теперь посмотрим, к каким последствиям может привести полностью гомологичный синапсис у простых гетерозигот по инверсии. Он делает возможной рекомбинацию в пределах инверсионной петли. Рекомбинация — это очень важный и полезный процесс, но только не в пределах инверсии. Здесь ее последствия чаще всего фатальны.

Нечетное число обменов в петле у гетерозигот по перичесентрической инверсии всегда приводит к потере одних и удвоению других участков хромосом, а у гетерозигот по парацентрической инверсии — к обра-

зованию хромосомы с двумя центромерами и хромосомы без центромеры. Гаметы, несущие такие хромосомы, нежизнеспособны (рис.6, слева).

Второй (четный) обмен в петле устраняет вредные последствия первого (рис.6, справа). Однако вероятность того, что два обмена возникнут рядом друг с другом, крайне низка. Поэтому первый же обмен в инверсионной петле всегда оказывается единственным (и нечетным) и ведет к фатальным последствиям.

Действительно, во многих генетических экспериментах показано, что у гетерозигот по инверсии нет потомков, рекомбинантных по генам, расположенным в районе инверсии. Это явление, названное запиранием кроссинговера, долгое время объясняли гибелью рекомбинантных гамет. Теперь мы понимаем, что запирание может осу-

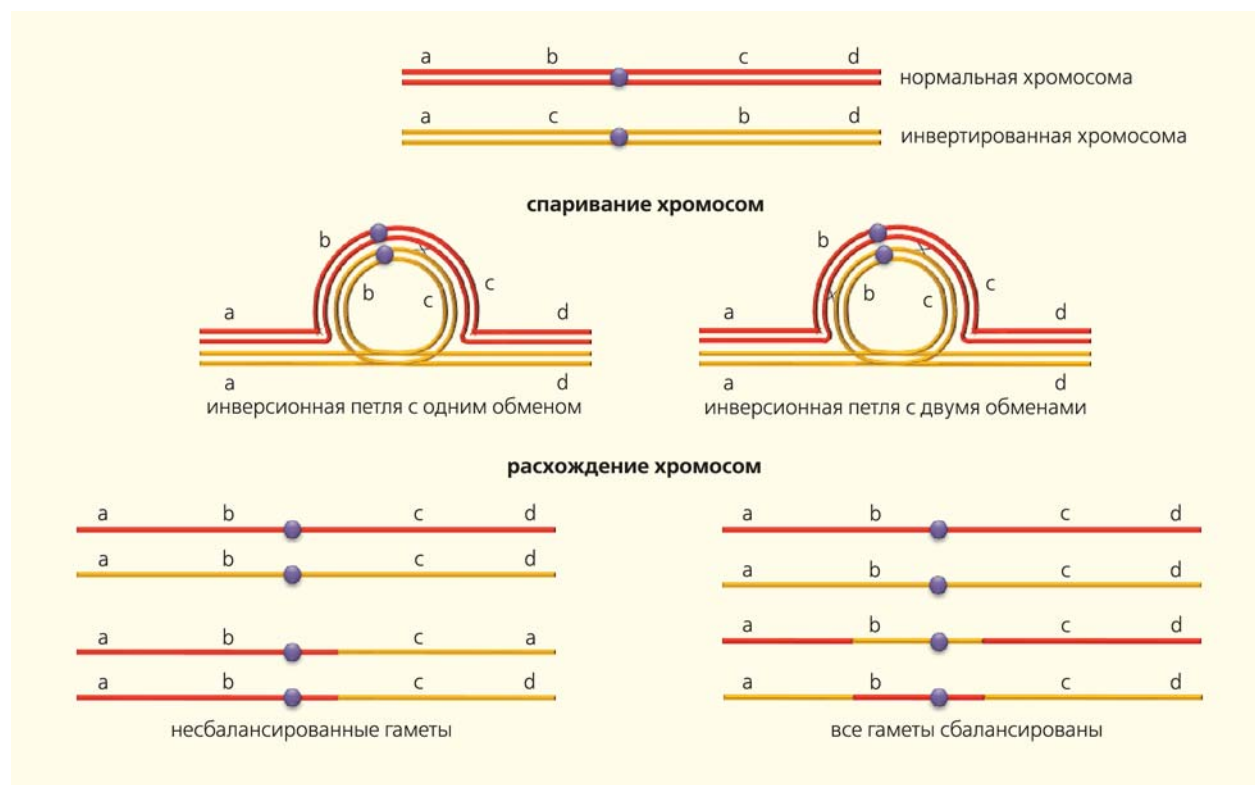


Рис.6. Продукты одинарного и двойного кроссинговера в инверсионной петле у гетерозигот по перичесентрической инверсии. Если в инверсионной петле произойдет нечетное число рекомбинационных обменов (один), образуется две нормальные хроматиды и две хроматиды с утерянными и удвоенными участками. Содержащие их гаметы, как правило, нежизнеспособны (слева). В случае четного числа обменов (двух) все гаметы оказываются сбалансированными (справа).

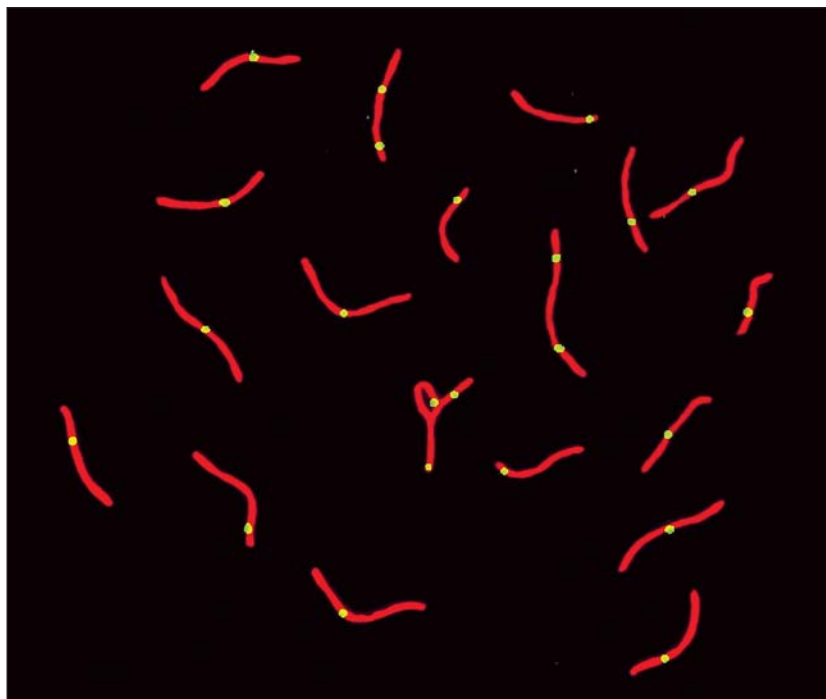


Рис.7. Ооцит мыши, гетерозиготной по инверсии в первой хромосоме. Клетка окрашена антителами к белку синаптонемного комплекса (красный цвет) и белку MLH1 (зеленый). Синаптонемный комплекс обеспечивает связь между гомологичными хромосомами. Белок MLH1 маркирует точки рекомбинации. Первая хромосома (в центре) формирует бивалент с инверсионной петлей, на котором видны три точки кроссинговера: одна внутри петли и две — вне.

ществляться и за счет негомологичного синапсиса в районе инверсии, который запрещает рекомбинацию.

Используя антитела к белкам рекомбинации, мы попытались оценить способы записывания кроссинговера у мышей, гетерозиготных по большой па-

рацентрической инверсии в хромосоме 1. Примерно в половине клеток возникали инверсионные петли, в которых мы наблюдали рекомбинацию (рис.7, 8). Оставшаяся часть клеток формировала линейные биваленты с негомологично спаренным районом инверсии.

В таких бивалентах рекомбинации в районе инверсии не должно быть никогда. И тем не менее в 20% таких прямых бивалентов мы наблюдали рекомбинацию в инвертированном участке. Хотя ее там не должно быть, потому что ее там не должно быть никогда. А в этих невозможных бивалентах всегда был один обмен, и он всегда располагался точно в середине инвертированного участка. Как могли образоваться такие невозможные биваленты? Может быть, это стало возможным, потому что петля схлопнулась?

Синаптическая подгонка

Идея о том, что инверсионные петли могут схлопываться, подгоняться, возникла около 30 лет назад [5]. Тогда обнаружили, что размер петель и процент клеток, несущих биваленты с петлями, уменьшается по мере мейотической прогрессии. Эта идея вошла в научную литературу как гипотеза синаптической подгонки. Предполагалось, что инверсионные петли могут превращаться в прямые биваленты. Согласно этой модели, гомологичный синапсис в петле может постепенно замещаться негомологичным, превращая петлевые биваленты в линейные. Долгое время думали, что большинство прямых бивалентов возникает именно так. Поэтому синапти-

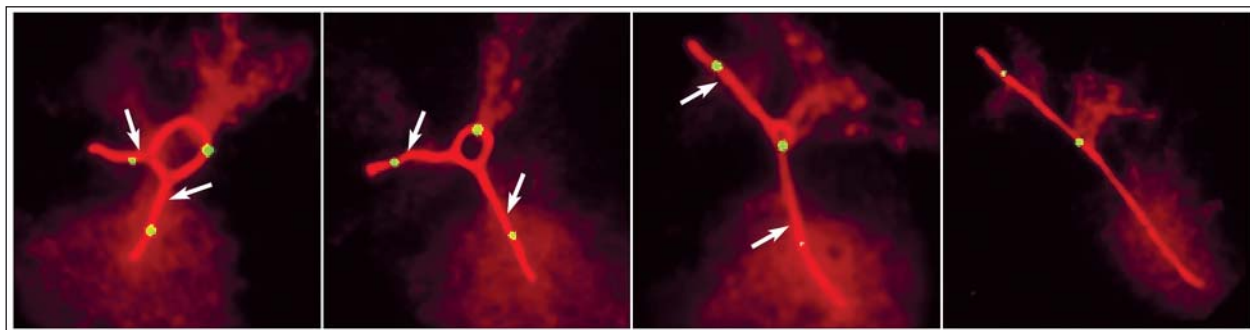


Рис.8. Биваленты хромосомы 1 у мыши, гетерозиготной по инверсии в этой хромосоме. Клетки окрашены антителами к белку синаптонемного комплекса (красный цвет) и белку MLH1 (зеленый). Стрелками показаны границы инверсии. Инверсионная петля варьирует по размеру от 60% длины хромосомы (слева) до 0% (справа). Во всех случаях инвертированный участок содержит один сигнал MLH1 — одну точку кроссинговера.

ческая подгонка считалась способом записывания кроссинговера, т.е. предотвращения рекомбинации в пределах петли. Сейчас мы знаем, что все наоборот: не подгонка предотвращает рекомбинацию, а рекомбинация в любом месте, кроме самого центра инверсии, предотвращает подгонку.

Если кроссинговер произошел в середине инверсионной петли, то замещение гомологичного синапсиса негомолгичным начнется с двух концов петли, достигнет середины и линейный бивалент сформируется практически беспрепятственно. Если же обмен произошел где угодно, но не в середине петли, он помешает завершению подгонки, так как в точке рекомбинации гомологичные хромосомы физически связаны перекрестом. Процесс подгонки «упрется» в рекомбинационную точку.

Результаты наших наблюдений также подтверждают это предположение. В большой части клеток на поздней стадии мейоза мы видели маленькие инверсионные петли с рекомбинационным сигналом в основании. Видео модели обоих вариантов синаптической подгонки читатель может загрузить с сайта нашей лаборатории*.

Применение к эволюции

Запирание кроссинговера в пределах инверсий играет огромную роль и в адаптации популяций, и в видообразовании. Рекомбинация нужна и полезна в быстроменяющихся условиях среды. Благодаря ей возникают и проверяются отбором новые сочетания генов. Но при этом, благодаря ей же, разрушаются

старые, уже опробованные и одобренные отбором комбинации [1]. Запирание кроссинговера позволяет сохранять такие сочетания, обеспечивая преимущества, которые могут перевешивать даже некоторое снижение плодовитости, обусловленное гибелью рекомбинантных гамет.

Обратите внимание, что запирание кроссинговера происходит у гетерозигот по инверсиям и, следовательно, у гетерозигот по запертым инверсиям комбинациям генов. Как только в популяции образуются гомозиготы по инверсиям — кроссинговер отпирается, но рекомбинация уже не может ничего разрушить — выгодные комбинации генов переведены в гомозиготное состояние.

Запирание кроссинговера, обусловленное инверсиями, видимо, очень важно в видообразовании. Рассмотрим две географически изолированные популяции, у которых в разных хромосомах возникают инверсии. Они распространяются и замещают нормальные варианты хромосом. После этого ареалы этих двух популяций смыкаются, становится возможной гибридизация. Гибриды фертильны, и через них может происходить обмен генами. Но гены, запертые в инверсиях, переходят от одного вида к другому гораздо медленнее, чем свободно рекомбинирующие. Если контакт между популяциями затем прервется и они со временем превратятся в настоящие виды, то гены, находившиеся в инверсиях, будут различаться сильнее, чем те, что были в районах без инверсий.

Именно это мы наблюдаем, сравнивая геномы человека и шимпанзе, которые отличаются друг от друга по серии инверсий. Анализ, проведенный Н.Бартоном и А.Наварро, показал, что гены, локализованные в инверсиях, дивергировали больше [6]. И произошло это не потому, что они быстрее эволюционировали, а оттого, что

изоляция между ними установилась раньше. Отсюда, между прочим, следует довольно забавный вывод о нашей видовой истории. С тем, что мы с шимпанзе происходим от общего предка, мы худо-бедно смирились. Теперь нам придется смириться с тем, что популяции протолюдей и протошимпанзе очень долгое время жили неподалеку друг от друга и время от времени обменивались генами.

Создание хромосомы Y

Инверсии сыграли ключевую роль в возникновении половых хромосом. У общего предка млекопитающих X- и Y-хромосомы были почти одинаковыми. Отличались они лишь тем, что на Y-хромосоме находились гены детерминации мужского пола, а на X-хромосоме их не было. Для надежного определения пола этот комплекс генов должен наследоваться неразрывным блоком, без обменов между X- и Y-хромосомами. Иными словами, кроссинговер должен быть прекращен между той частью прото-Y-хромосомы, где были гены мужского пола, и той частью прото-X-хромосомы, где таких генов не было.

Вы уже знаете, что самое надежное средство против кроссинговера — инверсии. Значит, все инверсии, возникавшие в этой части Y-хромосомы, немедленно подхватывались естественным отбором. В результате кроссинговер запирался почти на всей Y-хромосоме, и она стала быстро дивергировать от X-хромосомы. У большинства нынешних млекопитающих сохранился лишь крошечный участок гомологии между X- и Y-хромосомами, в котором они по-прежнему синаптируют и рекомбинируют [7].

Этот путь был не уникальным для млекопитающих. Инверсии накапливались всегда и везде, когда возникала необходимость образования половых хромосом.

* <http://meiosis.bionet.nsc.ru/media/line2.avi> — вариант с рекомбинацией точно в центре инверсии, который заканчивается полной подгонкой; <http://meiosis.bionet.nsc.ru/media/line3.avi> — вариант с рекомбинацией НЕ в центре инверсии, которая делает полную подгонку невозможной.

Хромосомные инверсии: инструкция по применению

Таким образом, инверсии оказываются уникальным эволюционным материалом. Они регулярно возникают в ходе рекомбинации и, как правило, не приводят к нарушениям фенотипа. Если они и меняют его, то не грубо и резко, а мягко и по чуть-чуть. Однако главное их достоинство — это способность на время запереть рекомбинацию в определенных участках генома, в которых могут накапливаться полезные комбинации генов. Естественно, за эти замечательные качества инверсии некоторым их носителям приходится платить снижением плодовитости за счет образования несбалансированных гамет. Однако в боль-

шинстве случаев эта плата относительно невелика. Более того, многим носителям инверсий удастся снизить эту плату или вовсе ее избежать.

Показательно, что гомологичный синапсис с образованием инверсионных петель обычно наблюдается у носителей недавно возникших инверсий. Инверсии же, давно присутствующие в популяциях, чаще всего характеризуются негомологичным синапсисом. Таким образом, их носители бесплатно пользуются всеми преимуществами инверсионной гетерозиготности.

Это снижение платы, по всей видимости, достигается двумя путями. С одной стороны, проверку мейозом проходят только те инверсии, которые предпочитают негомологичный си-

напсис. С другой стороны, в выборе между гомологичным и негомологичным синапсисом важную роль играет генотип носителя инверсии. В специальном эксперименте мы показали, что гетерозиготы по одной и той же инверсии, различающиеся по базовому генотипу, сильно отличаются друг от друга и по вероятности образования инверсионных петель, и по их размеру [8].

Если по этому признаку есть генетическое разнообразие, его может использовать отбор. Если в очень нужном геному месте возникает очень нужная инверсия, но склонная к гомологичному синапсису и продукции несбалансированных гамет, дайте время, и естественный отбор заставит ее вести себя прилично. ■

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 10-04-00008-а) и Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

Литература

1. Бородин П.М. // Природа. 2007. №1. С.14—22.
2. Богданов Ю.Ф. // Природа. 2008. №3. С.3—9.
3. Casals P., Navarro A. // Heredity. 2007. V.99. P.479—480.
4. Borodin P.M. et al. // Chromosoma. 1992. V.101. P.374—379.
5. Moses M.J. et al. // Chromosoma. 1982. V.82. P.457—474.
6. Navarro A., Barton N.H. // Science. 2003. V.300. P.321—324.
7. Labn B.T. et al. // Nature Reviews Genetics. 2001. V.2. P.207—216.
8. Бородин П.М. и др. // Генетика. 2005. Т.41. С.602—608.