

Взлет и падение Y-хромосомы

П.М.Бородин, Е.А.Башева, Ф.Н.Голенищев

В этой статье мы расскажем, как возникли половые хромосомы млекопитающих, как они эволюционировали, к чему пришли и что их ждет впереди. Особое внимание мы обратим на эволюцию поведения половых хромосом в мейозе у серых полевок. Ее мы исследовали втроем: Ф.Н.Голенищев отлавливал зверей, определял их видовую принадлежность и консультировал нас по всем таксономическим и филогенетическим вопросам; Е.А.Башева готовила и анализировала цитологические препараты; П.М.Бородин придумал план всей работы и написал основной текст статьи.

Полевки как зеркало эволюции млекопитающих

Полевки — это очень молодая и очень успешная группа грызунов. В одном только роде *Microtus* (серые полевки) более 60 видов. Это самый богатый видами род млекопитающих. Видообразование в нем происходило в Голарктике в течение последних 1.5 млн лет.

По происхождению всех серых полевок можно условно разделить на неарктических (американские аборигенные виды) и палеарктических, которые делятся на евро-малоазиатских и азиатских: а последние — на дальневосточных и средне-центрально-азиатских. Все они эволюционировали на разных территориях, но в примерно одинаковых условиях среды, поэто-



Павел Михайлович Бородин, доктор биологических наук, профессор кафедры цитологии и генетики Новосибирского государственного университета, заведующий лабораторией рекомбинационного и сегрегационного анализа Института цитологии и генетики СО РАН. Область интересов — эволюционная генетика. Лауреат диплома Президиума РАН за лучшие работы по популяризации науки 2009 г.



Екатерина Андреевна Башева, 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 разделу «Биологические науки».



Федор Николаевич Голенищев, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории териологии Зоологического института РАН. Занимается систематикой и эволюционной морфологией грызунов, проблемами видообразования.

му параллельно приобретали очень сходные адаптивные морфофизиологические особенности. Это делало морфологические критерии не очень надежным средством для построения филогении.

Только в последние годы молекулярно-генетические методы анализа митохондриальных и ядерных генов позволили получить данные, точнее и объективнее отражающие полевою генеалогию (рис.1), так как перестройки в генах в большей степени случайны и неадаптивны и, соответственно, не подвержены параллелизмам (гомологиям).

© Бородин П.М., Башева Е.А., Голенищев Ф.Н., 2012

Хромосома	комплекс ДНК и белков. В соматических клетках каждая хромосома представлена в двух экземплярах (гомологах), в половых клетках — в одном экземпляре.
Аутосомы	пары хромосом, одинаковые у самцов и самок.
Половые хромосомы	отличаются у самцов и самок. Например, у самок млекопитающих — две X-хромосомы, а у самцов — X и Y.
Мейоз	деление ядра клетки с уменьшением числа хромосом в два раза. Первое деление мейоза начинается с синapsиса (спаривания) уже удвоенных гомологов и обмена участками между ними (рекомбинации). В местах рекомбинации образуются структуры, которые удерживают гомологичные хромосомы вместе до их расхождения в разные дочерние клетки в конце первого деления. Нарушения в синapsисе и/или рекомбинации хромосом приводят к образованию несбалансированных половых клеток.

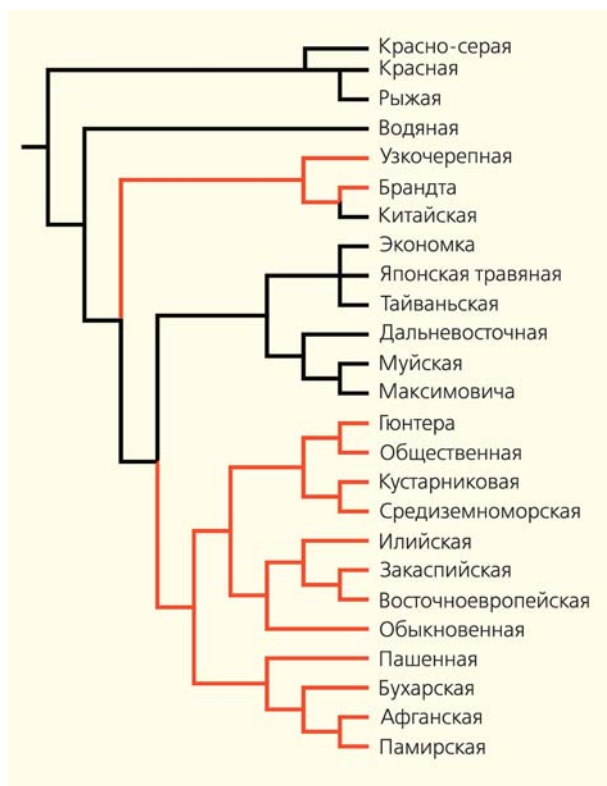


Рис.1. Филогенетическое древо полевок, составленное на основе морфологических и молекулярно-генетических данных. Красные линии ведут к асинapтическим видам.

В ходе быстрой дивергенции разные виды полевок накапливали хромосомные различия, в том числе в строении и составе половых хромосом. Именно поэтому для анализа их эволюции мы и выбрали этих животных.

Скромное обаяние хромосом

Способов анализа эволюции хромосом много. Есть разные методы окрашивания, позволяющие надежно выявлять крупные перестройки хромосом (деления, инверсии, транслокации). Однако чувствительности окрашивания недостаточно для обнаружения мелких перестроек — это возможно лишь

с помощью методов молекулярной биологии. Но все они требуют больших затрат времени и денег, а кроме того, нужно заранее знать, где искать перестройки. Мы пошли другим путем — предоставили хромосомам возможность делать это самим. Собственно, они и без нас этим занимаются в каждом цикле мейоза. Просто в нужный момент мы останавливали поиски и смотрели, что получилось.

Когда на защите дипломной работы студенты говорят, что их задачей было посмотреть то и се, все профессора в один голос возражают: «Не посмотреть, а изучить». Профессора при этом забывают, как много замечательных открытий люди сделали из-за того, что хотелось не изучить, а именно посмотреть: что там за мысом Горн; что будет, если уронить гирю с Пизанской башни или запустить навстречу друг другу пучки протонов в том коллайдере? Особенно силен мотив «посмотреть» у цитологов. Потому что, во-первых, это красиво. А все остальное — как максимум, во-вторых.

Сказочно чудны хромосомы при начале мейоза, когда вольно и плавно движут они теломеры свои по ядерной мембране, сходясь друг с другом [1]. Мы видим, как оси гомологичных хромосом тянутся друг к другу в лептотене, как в зиготене они объединяются — сначала теломерами, потом небольшими участками в середине; затем, сплетаясь как пара змей, надолго замирают в пахитене, чтобы залечить раны друг друга — двунитевые разрывы ДНК [1]. Именно в этот момент мы и фиксируем хромосомы и любимся получившимися конфигурациями.

Все это выглядит очень красиво даже при полностью гомологичных хромосомах, но наиболее привлекательная картинка получается, если гомология нарушена хромосомными перестройками. Когда один гомолог нормальный, а другой содержит и инвертированный (повернутый на 180°) участок, мы наблюдаем у таких гетерозигот изящные инверсионные петли. В свое время из чисто эстетических соображений мы специально конструировали на мышах сложные синapтические конфигурации. Например, скрещивали линии, несущие разные инверсии в одной и той же хромосоме [2].

Большую серию исследований по популяционной цитогенетике обыкновенных землероек [3, 4] мы провели, чтобы ПОСМОТРЕТЬ на синapтическую цепь из восьми хромосом, образующуюся

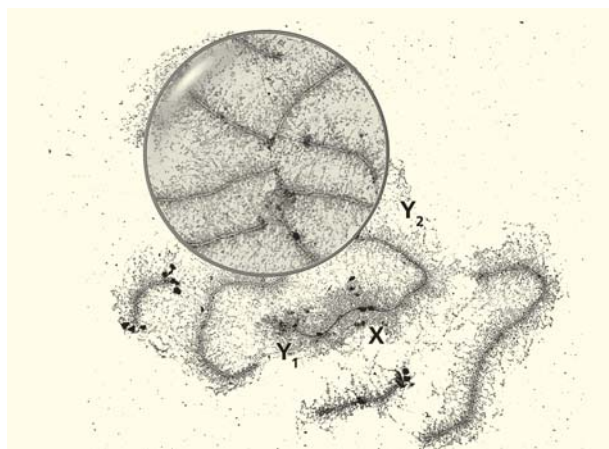


Рис.2. Микрофотография мейотической клетки самца обыкновенной землеройки, гетерозиготного по восьми транслокациям (в круге). У него три половые хромосомы: одна хромосома X и две спаренные с ней хромосомы Y.

у гибридов между двумя хромосомными расами. И согласитесь — оно того стоило (рис.2). Кстати, если уж речь зашла о землеройках, обратите внимание, что у самцов обыкновенной землеройки не две, а три половые хромосомы — X, Y₁ и Y₂. В работе, о которой речь пойдет дальше, мы использовали синаптические конфигурации половых хромосом полевок, чтобы следить за их эволюцией.

Рождение половых хромосом

Специалисты по хромосомам млекопитающих давно пришли к убеждению, что у их общего предка, который жил на Земле более 150 млн лет, назад хромосомы X и Y были одинаковыми и полностью гомологичными [5]. Затем на одной (той, которая потом стала Y) ген фактора транскрипции SOX3 удвоился, и в одной из копий возникла мутация, превратившая его в главный ген мужского пола SRY. Только этим и различались тогда X- и Y-хромосомы. Однако со временем в Y-хромосоме рядом с геном самцовости стали накапливаться полезные для самцов гены. Сейчас их довольно много — все гены, контролирующие сперматогенез, высокий рост и прочие мужские достоинства (рис.3). Они возникали за счет мутаций и/или переносились туда из других хромосом транслокациями и/или мобильными элементами.

Поскольку самкам такие гены были как минимум бесполезны, а иногда и вредны, естественный отбор стал подхватывать любые изменения, предотвращающие обмен генами (рекомбинацию) между X- и Y-хромосомами. Самое надежное средство против рекомбинации — это инверсии [2]. Все они, возникавшие в Y-хромосоме, немедленно закреплялись естественным отбором. В результате рекомбинация полностью прекратилась почти на

всей Y-хромосоме, и она стала быстро дивергировать от X-хромосомы. Тот крохотный район, где хромосомы X и Y еще синаптируют — это все, что осталось от их бывшей гомологии. Осталось почти у всех плацентарных млекопитающих [5], но за очень малыми исключениями. И, как всегда, именно исключения оказались самыми интересными. Не зря У.Бэтсон учил нас, генетиков: «Treasure your exceptions» («Дорожите своими исключениями»).

Полевки как исключительные млекопитающие

В то время, когда Бородин занялся этой проблемой, было известно, что у самцов обыкновенной и пашенной полевок X- и Y-хромосомы в начале мейоза сходились вместе, но, в отличие от половых хромосом всех остальных млекопитающих, не синаптировали. Стало любопытно, как ведут себя половые хромосомы у других полевок, поэтому немедленно было решено посмотреть всех ближайших родственников обыкновенной полевки, которые жили в виварии, — восточноевропейскую, илийскую и закаспийскую. И хотя они сильно отличались друг от друга по размерам и форме половых хромосом (у одних они были нормальными, у других — гигантскими), в одном оказались сходными между собой — их X- и Y-хромосомы не синаптировали друг с другом (рис.4).

Предстояло выяснить, насколько широко это исключение распространено среди полевок, и понять, когда они утратили фундаментальное для всех плацентарных свойство — X—Y-синапсис.



Рис.3. Набор генов, локализованных на Y-хромосоме, как его представляли в 1980-х годах, задолго до эпохи секвенирования (слева), и современный список, основанный на результатах молекулярно генетического анализа (справа). Большинство генов в обоих списках определяют качества, специфичные для мужчин (по: <http://nitro.biosci.arizona.edu/humor/cmap.txt> и http://www.dnarss.com/The_Y_Chromosome.html).

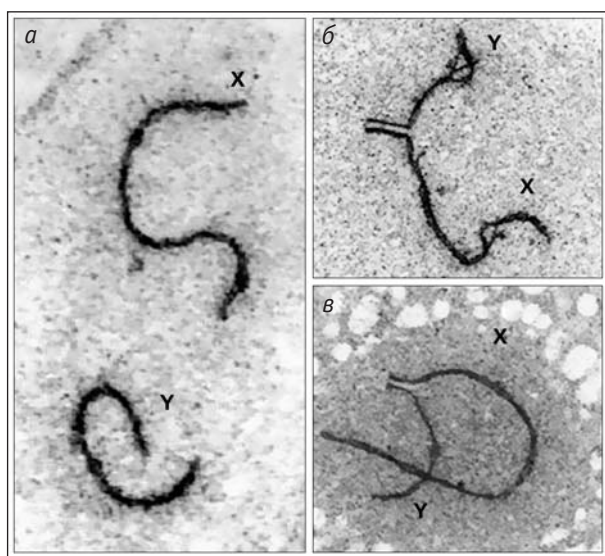


Рис.4. Асинатические (слева), и синатические (справа) половые хромосомы полевок: а — обыкновенная полевка, б — дальневосточная полевка, в — мускусная полевка.

Для опытов Бородин попросил у Голенищева всех кого не жалко. Не жалко ему было имеющихся у него серых полевок (афганскую, бухарскую, общественную, гюнтерову, кустарниковую, полевку-экономку), а также несколько видов из семейства полеvoчьиx, не относящихся к серым полеvкам, — водяную полевку и три вида лесных полевок.

Оказалось, что половые хромосомы водяной полевки и всех трех видов лесных ведут себя в мейозе точно так же, как и половые хромосомы всех остальных млекопитающих, т.е. синаптируют в относительно коротком участке. Следовательно, общий предок всех полевок имел нормальные хромосомы X и Y. Исключение из правила для млекопитающих (отсутствие X—Y-синапсиса) представляли собой виды серых полевок, кроме полевки-экономки. Ее половые хромосомы вели себя не как у остальных серых полевок, а как у остальных млекопитающих.

Когда норма становится исключением

Из перемножения исключений возникала ниже-следующая картина эволюции половых хромосом полевок. У общего предка млекопитающих, который жил на Земле более 150 млн лет назад, хромосомы X и Y были одинаковыми и полностью гомологичными. С появлением Y-хромосомы, они стали быстро дивергировать и к моменту расхождения между грызунами и приматами (91 млн лет назад) район ее гомологии с X сократился до минимума и сохранялся у общего предка полеvoчьиx до очень недавнего времени (1.5 млн лет назад). Более того, он был еще у общего предка полевки-

экономки и всех исследованных остальных серых полевок, который жил на Земле около 1 млн лет назад. Вскоре после этого в Y-хромосоме предка остальных серых полевок что-то сломалось и она окончательно утратила способность спариваться с X-хромосомой.

Вот такую стройную картину Бородин послал в редакцию журнала «Hereditas» [6]. А там уже ждала публикации статья его главного редактора с соавтором под примечательным названием «Курьезная нормальность синаптической ассоциации между половыми хромосомами двух видов полеvoчьиx грызунов: полевки-экономки и рыжей полевки» [7]. Конечно, это было не письмо Уоллеса, да и Бородин был далеко не Дарвином, но все равно ему было обидно. Он посмотрел 14 (четырнадцать!) видов полевок и нарисовал величественную картину эволюции их половых хромосом. А его соперники изучили два вида из его же списка и написали про курьезную нормальность! Более того, предложили возмутительное объяснение этой нормальности. Согласно их теории, общий предок всех полеvoчьиx имел синаптические половые хромосомы, потом общий предок всех серых полевок утратил способность к синапсису, а потом (вот это самое интересное) полевка-экономка чудесным образом эту способность восстановила!

И такое объяснение следовало из одного единственного факта — диплоидное число хромосом у экономки ($2n = 30$) одно из самых низких среди полевок. В те времена цитогенетики наивно полагали, что эволюция всегда идет в сторону уменьшения числа хромосом. Значит, что если у экономки хромосом меньше, чем у других полевок, то она продвинулась по пути эволюции гораздо дальше них, убогих и примитивных. А если экономка такая продвинутая, ее половые хромосомы не унаследовали от общего предка способность к спариванию, а приобрели ее сами по себе.

Эволюция параллельными курсами

Вскоре обе статьи появились в журнале [6, 7], и многие стали внимательно смотреть на разных полевок. Оказалось, что экономка среди серых полевок не одинока. Синаптические половые хромосомы обнаружили у всех ее ближайших родственников, принадлежащих к так называемой азиатской филогенетической группе. И не только у них, а еще у нескольких видов, отделившихся от общего ствола серых полевок несколько раньше, чем разошлись пути азиатских и всех остальных серых полевок (рис.1). Но это так и должно было быть, если в ходе эволюции способность к синапсису полевки утратили один единственный раз.

Именно это допущение мы и решили проверить, включив в анализ несколько новых видов. Наиболее информативной нам показалась группа, которая включает широко распространенную уз-

кочерепную полевку и два центрально-азиатских вида — китайскую полевку и полевку Брандта. Эта ветвь очень рано отделилась от общего ствола — ПОСЛЕ того как серые полевки отделились от остальных полевочьих (синаптических), но ДО того, как разошлись эволюционные пути азиатской линии (синаптические полевки) и европейско-малоазиатской (асинаптические). Внутри этой ветви первой и давно отделилась узкочерепная полевка, а китайская полевка и полевка Брандта разошлись друг с другом относительно недавно (см. рис.1).

Кроме того, мы рассмотрели еще три вида полевок дальневосточной линии: полевку Максимовича, муйскую и дальневосточную, довольно близких родственников синаптических полевок (экономки, японской травяной и тайваньской). Два первых вида на предмет синапсиса никто не смотрел, а дальневосточную описали в «Зоологическом журнале» как асинаптическую, что показалось нам недоразумением. Хотя в статье было заявлено, что она асинаптическая, но из приведенных там электронно-микроскопических снимков этого не никак следовало. На них мы ясно видели синапсис между X и Y, а авторы его просто не замечали. Поэтому мы решили еще раз внимательно посмотреть на синапсис между X и Y у дальневосточной полевки.

Оказалось, что у всех трех видов азиатской линии (полевки Максимовича, муйской и, что особенно приятно, дальневосточной) наблюдался явный и несомненный синапсис между X- и Y-хромосомами (рис.4). Более того, мы обнаружили, что они не только спариваются, но и рекомбинируют (рис.5). Об этом однозначно свидетельствовало наличие в районе их синапсиса рекомбинационного комплекса белков, в том числе и белка MLH1. Поскольку обмен возможен только между абсолютно гомологичными участками хромосом, то обнаружение рекомбинационного комплекса белков у районе спаривания между X- и Y-хромосомами указывало на его абсолютную гомологию.

Более того, изучение гибридов муйской полевки с полевкой Максимовича показало, что X-хромосома первой спаривается с Y-хромосомой второй и, наоборот, Y-хромосома муйской полевки — с X-хромосомой полевки Максимовича. Следовательно, район спаривания между X- и Y-хромосомами не изменился за десятки тысяч лет, прошедших с момента расхождения этих видов.

Мы ожидали, что и другие виды, включенные в анализ, будут синаптическими. Однако против всех ожиданий, выяснилось, что половые хромосомы узкочерепной полевки и полевки Брандта не синаптируют вовсе и тем более не рекомбинируют. При этом морфология, и палеонтология, и молекулярно-генетические данные однозначно и определенно свидетельствуют о том, что общий предок узкочерепной полевки и полевки Брандта отделился от общего ствола гораздо раньше, чем разошлись европейско-малоазиатская (асинаптическая) и азиатская (синаптическая) линии (см.

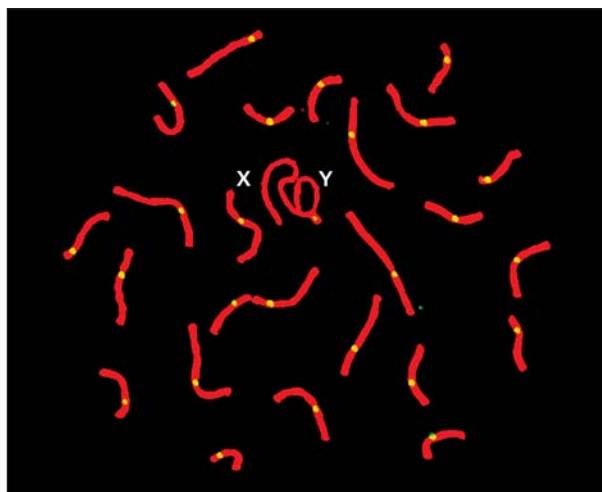


Рис.5. Точки рекомбинации (зеленый сигнал) на аутосомах и в районе спаривания половых хромосом дальневосточной полевки.

рис.1). Значит, такая простая и красивая теория об однократном возникновении асинапсиса половых хромосом у полевок пошла прахом.

Асинапсис у узкочерепной полевки и полевки Брандта возник независимо от полевок *европейско-малоазиатской* линии. Возможно, такое независимое возникновение асинапсиса в этих линиях было подготовлено предшествующей эволюцией. Видимо, еще до разделения основных филогенетических линий полевок у их общего предка появился дополнительный механизм, позволяющий половым хромосомам расходиться правильно как при синапсисе и рекомбинации, так и в их отсутствие. Что это за механизм, мы пока не знаем, но, как пишут в Гугле, когда что-то не открывается, «наши специалисты уже работают над этим».

Китайская полевка и будущее Y-хромосомы

С большим удивлением мы обнаружили, что китайская полевка относится к синаптическому типу. Она не могла унаследовать способность к синапсису от общего предка, поскольку половые хромосомы ее ближайших родственников (узкочерепной полевки и полевки Брандта) не синаптируют. Видимо, мы должны вернуться к тому самому объяснению, которое раньше с гневом отвергли для полевки-экономки, т.е. предположить, что способность к синапсису между X и Y у китайской полевки возникла *de novo*. Похоже, мы имеем на это право, поскольку сам тип синапсиса у нее вообще не полевочный, а человеческий!

На X- и Y-хромосомах полевок синаптической группы и всех остальных грызунов имеется один единственный, причем очень маленький район спаривания (см. рис.3). На половых хромосомах человека есть не один, а два района спаривания.

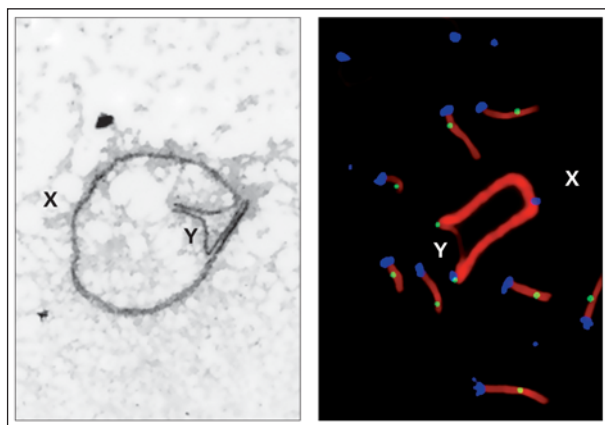


Рис.6. Синапсис и рекомбинация половых хромосом китайской полевки. Электронная (слева) и флуоресцентная микротографии. Рекомбинационные узелки (зеленый сигнал) наблюдаются в обоих районах синапсиса.

Один из них факультативный, где синапсис происходит не всегда, а рекомбинация крайне редко. Это реликт того давнего (150 млн лет назад) состояния, когда прото-Х и прото-У-хромосомы были полностью гомологичны. Он, видимо, присутствует в той или иной степени у всех плацентарных. Другой район спаривания, где синапсис и рекомбинация происходят всегда, присущ только приматам. Он возник у них уже после того, как они разошлись с грызунами. Его образование связывают с переносом на половые хромосомы участка какой-то из аутосом [8].

У китайской полевки мы с удивлением обнаружили два района спаривания половых хромосом. Более того, они были гораздо больше, чем человеческие, и рекомбинация регулярно происходила в обоих районах (рис.6). Эти района, видимо, возникли за счет переноса кусков аутосом, поскольку у общего предка китайской, узкочерепной полевки и полевки Брандта исходный район гомологии

между половыми хромосомами уже был утрачен. Значит предсказанная заранее и широко разрекламированная смерть У-хромосомы (в том числе и человеческой) не так уж неизбежна [8].

Идея о том, что мужская хромосома обречена, имеет как теоретические, так и практические основания. Согласно теории, прекращение рекомбинации в любой хромосоме (или на отдельном ее участке) медленно, но неуклонно ведет к мутационному расплавлению генома и деградации [1]. Это положение было доказано и экспериментально. Хромосомы, в которых рекомбинация искусственно подавлялась, накапливали вредные мутации и утрачивали полезные гены.

Такие же неприятные события начали происходить с У-хромосомой в тот самый момент, когда она стала мужской. У человека, как и у большинства млекопитающих, она гораздо меньше по размеру, чем Х-хромосома и большинство аутосом. В У-хромосоме специфические красители выявляют мало районов, где могут находиться гены. Другие красители показывают, что она состоит в основном из повторяющихся последовательностей, не несущих полезной информации. Х-хромосома, которая у самок рекомбинирует в мейозе, содержит более тысячи функциональных генов, а в У-хромосоме их около 30. Все остальное — генетический мусор. Если аппроксимировать темп деградации У-хромосомы на будущее, то оказывается что жить ей осталось около 10 млн лет [8].

Однако наличие в У-хромосоме человека дополнительного района спаривания с Х-хромосомой и, самое главное, очень недавнее (меньше 1 млн лет назад) возникновение в У-хромосоме китайской полевки двух новых районов спаривания показывает, что процесс этот обратим. Деградация У-хромосомы может быть частично компенсирована за счет переноса в нее участков аутосом. И, как писал Дарвин в своей великой книге, «мы можем с доверием рассчитывать на безопасное и продолжительное будущее». ■

Работа частично финансировалась Российским фондом фундаментальных исследований (проекты 09-04-00851 и 10-04-00008) и СОРАН.

Литература

1. Бородин П.М. Генетическая рекомбинация в свете эволюции // Природа. 2007. №1. С.14—22.
2. Бородин П.М., Торгашева А.А. Хромосомные инверсии в клетке и в эволюции // Природа. 2011. №1. С.19—26.
3. Поляков А.В., Бородин П.М. Хромосомный «портрет» бурозубки на фоне ледников // Природа. 2001. №1. С.34—40.
4. Бородин П.М., Рогачева М.Б., Ода С.И. Домовая землеройка на пути к видообразованию // Природа. 2002. №9. С.1—11.
5. Михайлов П. Хромосома Х в четырех кругах незнания // Химия и жизнь. 2002. №8. С.24—27.
6. Borodin P.M., Sablina O.V., Rodionova M.I. Pattern of X-Y chromosome pairing in microtine rodents // Hereditas. 1995. V.123. P.17—23.
7. Ashley T., Fredga K. The curious normality of the synaptic association between the sex chromosomes of two arvicoline rodents: *Microtus oeconomus* and *Clethrionomys glareolus* // Hereditas. 1994. V.120. P.105—111.
8. Graves J.A., Wakefield M.J., Toder R. The origin and evolution of the pseudoautosomal regions of human sex chromosome // Hum Mol Genet. 1998. V.7. P.1991—1996.