

MOLECULAR GENETIC MECHANISMS OF MAMMAL PRIMARY SEX DETERMINATION

A. F. SMIRNOV

The data and hypotheses concerning molecular genetic control of mammal sex determination are presented. The problems of putative testis determining genes (SRY, ZFY) and autosomal, X-chromosomal modifiers of its activity are also discussed. The genetic peculiarities of Y-chromosome are dealt with. The versions of primary sex determination of vertebrates are discussed.

Изложены представления о молекулярно-генетическом контроле пола у млекопитающих, данные о предполагаемых тестисопределяющих генах (SRY, ZFY), аутосомных и X-хромосомных факторах модификации их активности. Обсуждены генетические особенности Y-хромосомы. Рассмотрены возможные варианты первичной дифференциации пола у позвоночных.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ПЕРВИЧНОЙ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

А. Ф. СМІРНОВ

Санкт-Петербургский государственный университет

ВВЕДЕНИЕ

Комбинация методов классической генетики и молекулярной биологии, современные генетические карты позволяют не только изолировать отдельные гены, но и исследовать молекулярно-генетический контроль сложных биологически важных признаков. Исследование первичной детерминации пола — хороший пример реальных возможностей современной молекулярной генетики.

Пол — совокупность морфологических и физиологических особенностей организма, обеспечивающих половое размножение, сущность которого сводится к оплодотворению, то есть слиянию мужских и женских половых клеток (гамет) в зиготу, из которой развивается новый организм. В изучении полового размножения есть еще множество нерешенных вопросов. В частности, до сих пор обсуждаются преимущества и недостатки полового размножения по сравнению с бесполом вариантом, эволюционная связь этих способов размножения. Предполагается, что асексуальные системы менее приспособлены к изменяющимся условиям внешней среды, неспособны эффективно элиминировать вредные мутации и относительно короткоживущи. Считается, что, обеспечивая рекомбинацию родительских наборов генов, половое размножение дает лучшие возможности для приспособления. Появляется и возможность сосредоточения вредных мутаций в одном геноме и их последующего удаления.

Необходимо подчеркнуть тесную взаимосвязь принципов определения пола у животных с такими фундаментальными проблемами генетики, как биологическая значимость обедненных генами и относительно постоянно компактизированных в клеточном цикле так называемых гетерохроматиновых районах хромосом, совместимость гибридных геномов (возможность получения плодовых гибридов при отдаленной гибридизации), иммортализация (бессмертие) отдельных клеточных линий и т.д.

Привлекает внимание и огромное разнообразие вариантов полового размножения и соответствующих ему версий определения пола, затруднена даже их классификация. Обычно говорят о соматическом поле применительно к соме (от греч. soma — тело) — совокупности клеток многоклеточного организма

(исключая половые) — и гаметном поле, подразумеваемая превращение первичной недифференцированной половой клетки в зрелый сперматозоид и яйцеклетку. Становление соматического и гаметного пола в разной степени взаимосвязано у представителей разнообразных систематических групп.

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. В табл. 1 представлены принципиальные схемы определения пола у некоторых представителей животного мира, обозначены соответствующие гены.

В рамках небольшого обзора невозможно рассмотреть все аспекты генетического контроля пола. Остановимся лишь на молекулярно-генетических достижениях последних лет, непосредственно связанных с первичной детерминацией пола у млекопитающих.

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Классическими эмбриогенетическими исследованиями установлены два правила определения пола у млекопитающих. Первое из них сформулировано в 60-х годах Альфредом Жостом на основе экспериментов по удалению зачатка будущих гонад (гонадный валик) у ранних эмбрионов кроликов:

удаление валиков до формирования гонады приводило к развитию всех эмбрионов как самок. Было высказано предположение о секретировании гонадами самцов (тестисами) эффектора (тестостерона), ответственного за маскулинизацию плодов, и предсказано наличие второго эффектора антимюллеровского гормона (MIS), непосредственно контролирующего такие анатомические преобразования. Результаты наблюдений были сформулированы в виде правила: “Специализация развивающихся гонад в тестис или яичник определяет последующую половую дифференциацию эмбриона”.

Примерно до 1959 года предполагалось, что число X-хромосом, которое, как известно, равно двум у самок и одному у самцов, является важнейшим фактором контроля пола у млекопитающих. Однако обнаружение индивидуумов с единственной X-хромосомой, развивающихся как самки, а особей с одной Y-хромосомой и множественными X-хромосомами как самцы заставило отказаться от таких представлений. Сформулировано второе правило определения пола у млекопитающих: “Y-хромосома несет генетическую информацию, требуемую для детерминации пола у самцов”. Комбинация приведенных выше двух правил иногда называется принципом Жоста: “Хромосомный пол, связанный с присутствием или отсутствием Y-хромосомы, определяет дифференциацию эмбриональной гонады, которая, в свою очередь, контролирует фенотипический пол организма”. Подобный механизм определения пола называют генетическим (GSD) и противопоставляют таковому, основанному на контролирующей роли факторов внешней среды (ESD) или соотношению половых хромосом и аутосом (CSD) (см. табл. 1).

Биологической основой генетического механизма определения пола является бисексуальность эмбриональных гонад млекопитающих. В таких прогонадах одновременно присутствуют Мюллеровы и

Таблица 1. Принципиальная схема определения пола у некоторых представителей животного мира

	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Caenorhabditis elegans</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>	<i>Alligator mississippiensis</i>	Mammalia
Контролирующий сигнал	Транскрипция HO-гена	Соотношение X-хромосом и аутосом		Внешняя температура	Y-хромосома
↓					
Ключевой ген	MAT (α/a)	her (+/-)	Sxl (+/-)	TDF	TDF-SRY
↓					
Гены, контролирующие гонадогенез (полопределяющие)	—	xol1 sdc1, sdc2 her1 tra2, tra3 fem1, fem2, fem3, tra1	sis-a, sis-b da, liz fl(2)d Sxl tra, tra2 dsx, ix	Эффекторные молекулы, гормоны	Гормоны
↓					
Гены, контролирующие половую дифференцировку	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-

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

Вольфовы протоки — зачатки половых путей соответственно самок и самцов. Первичная детерминация пола начинается с появления в прогонадах специализированных клеточных линий — клеток Сертоли. В последних синтезируется предсказанный А. Жостом MIS, ответственный за прямое или опосредованное ингибирование развития Мюллерова протока — зачатка будущих фаллопиевых труб и матки (рис. 1).

Используя химерные клеточные линии мышей, удалось показать, что для нормального функционирования клеток Сертоли необходим XY-кариотип. Установлено также, что именно в этих клетках Y-хромосома деконденсирована и, может быть, транскрипционно активна. Схематически роль Y-хромосомы,

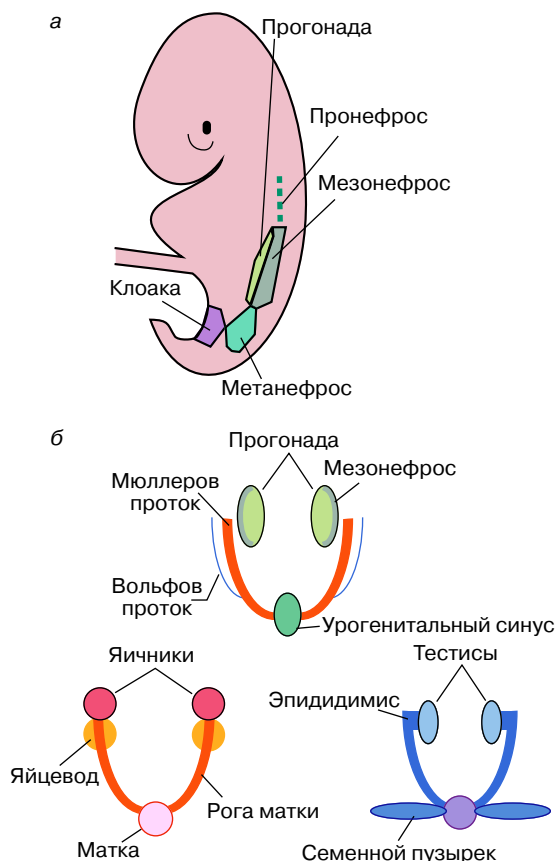


Рис. 1. Развитие гонад у млекопитающих: а – плод с недифференцированной прогонадой; б – схема мочеполовой системы самцов и самок у такого плода. Гонадный бугорок развивается вместе с мезонефросом (почка). Прогоната морфологически неразличима у XX- и XY-эмбрионов. Первые половые различия между развивающимися гонадами наблюдаются у человека через 6 недель после зачатия, у мышей на 12,5-й день. Мюллеров проток прогонады является предшественником матки, яйцеводов, верхней части влагалища, Вольфов проток – эпидидимиса, семяпроводящих протоков, семенных пузырьков

сцепленного с ней гипотетического тестисопределяющего фактора (TDF) в развитии недифференцированной бисексуальной гонады в направлении тестисов и ингибировании появления яичников представлена на рис. 2.

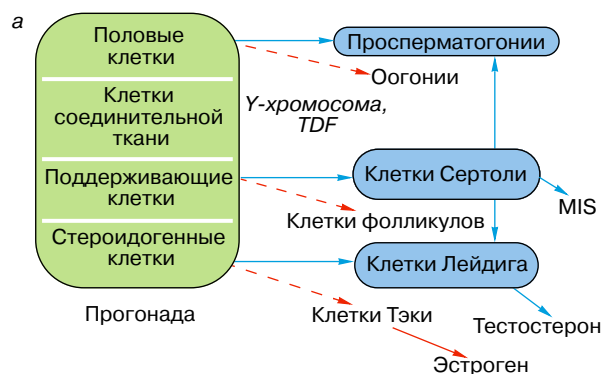


Рис. 2. Схема определения пола у млекопитающих: а – определение тестисов из четырех клеточных типов прогонады. Пунктирные стрелки обозначают пути в направлении развития яичников; б – временная диаграмма последовательных стадий определения пола. 1 – догонадная. Отсутствие у эмбриона половых органов; 2 – прогонадная. Появление гонадного валика и бисексуальной прогонады; 3 – формирование “гонадного пола” (первичное определение пола). Синтез TDF. Появление клеток Сертоли, окружающих половые клетки (семявыносящие каналы); 4 – дифференциация пола. Синтез MIS-клетками Сертоли. Появление клеток Лейдига, продуцирующих андрогены. Маскулинизация внешних гениталиев

ТЕСТИСОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ГЕНЫ

Возможность построения и использования генетических карт животных, в частности Y-хромосомы человека и мыши, обеспечила установление гипотетического TDF. На рис. 3 представлена эволюция результатов “охоты” за этим геном применительно к конкретному интервалу на Y-хромосоме Homo sapiens. Его идентификация состоялась также благодаря анализу довольно редко встречающихся особей с хромосомной инверсией пола — самцов XX и самок XY. Подобного рода нарушения описаны для 17 видов млекопитающих и согласно основному принципу определения пола в этой систематической

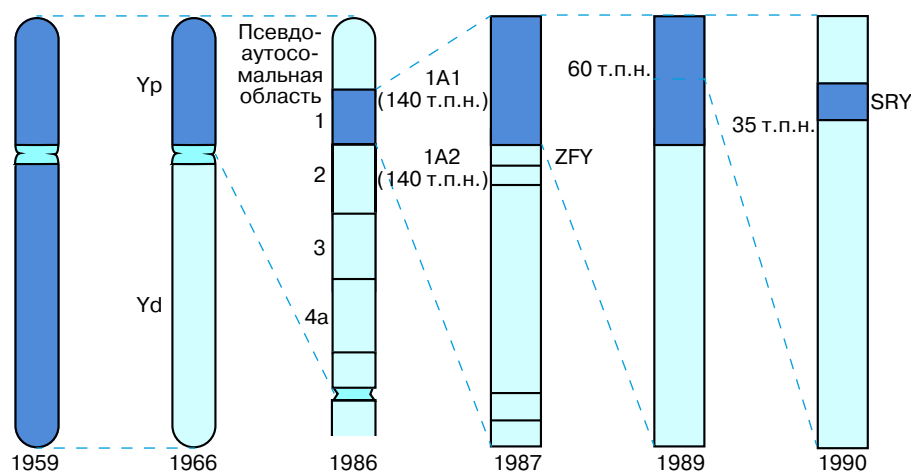


Рис. 3. Поиск тестисопределяющего фактора (TDF) на Y-хромосоме человека:

1959 – вся Y-хромосома рассматривается как полопределяющая (2–3% гаплоидного генома, $3,5 \cdot 10^6$ тыс. пар нуклеотидов – т.п.н.);
 1966 – гипотетический TDF связывают с коротким плечом;
 1986 – поиск сужается до района 1 короткого плеча;
 1987 – дальнейшее ограничение поиска участком 1A1 и приграничных участков. Выявлен ген ZFY;
 1989 – обнаружены мужчины, не обладающие ZFY;
 1990 – идентифицирован вероятный TDF – ген SRY. Мутации, связанные с инверсией пола, захватывают лишь небольшой консервативный мотив этого гена HMG-бокс (80 аминокислотных остатков, 320 п.н.)

группе должны нести соответственно транслокацию или делецию Y-хромосомного фрагмента с TDF. У мышей описаны два типа самцов: XX-XXSxg' и XXSxg'. Их появление обусловлено дупликацией и переносом несколько различающихся по размеру участков короткого плеча Y-хромосомы на общий для обеих гоносом (половых хромосом) так называемый псевдоаутосомальный (PAR) терминальный район X-хромосомы. Такие самцы обладают тестисами, но их репродуктивная система дефектна из-за аномалий сперматогенеза. Важной особенностью самцов XXSxg' является отсутствие у них антигена гистосовместимости (H-Y-антиген), первоначально рассматриваемого как необходимый атрибут гетерогаметного, то есть производящего гаметы с X-или Y-хромосомой, пола и возможный TDF. Мужчины с кариотипом XX, обладающие нормальными тестисами, но стерильные, встречаются у человека с частотой 1 : 20 000.

В 1987 году Дэвид Пэйдж и его коллеги, исследуя мужчину XX, унаследовавшего 280 т.п.н. фрагмент Y-хромосомспецифической ДНК, и женщину XY с делецией (нехваткой), захватывающей эту область в результате обмена участками между хромосомами X и 22, казалось, обнаружили ускользающий TDF. Им оказался присутствующий в Y-хромосоме всех настоящих зверей Eutheria и расположенный в области размером 140 т.п.н. в 100 т.п.н. от границы псевдоаутосомальной области ген ZFY. Гомолог ZFY-ZFX обнаружен в X-хромосоме, причем он избегает характерной для генов, в ней локализованных,

инактивации. Оба эти фактора кодируют белок, образующий структуру так называемых цинковых пальцев, обладающий ДНК-связывающей активностью, который можно рассматривать как фактор транскрипции.

Однако довольно быстро накопились данные, не позволяющие отождествлять ZFY и TDF. Так, у млекопитающих для детерминации гонад не требуется присутствия половых клеток, но это оказалось необходимым для активности одного из двух мышинных гомологов ZFY-zfy1 гена. Экспрессия этого гена выявлена в гонадном бугорке TDF-мутантов Y^{dym1} , впоследствии развивающихся как самки. Весомым контраргументом против рассмотрения ZFY в качестве TDF явилось его аутосомное местоположение у сумчатых (подкласс Metatheria, низшие звери), для которых, как и Eutheria (у высших зверей), характерно участие Y-хромосомы в определении пола. В последнее время появились данные, отрицающие прямую зависимость между наличием половых клеток и экспрессией zfy1 гена. Однако даже эта поправка оставляет для ZFY-подобных генов только важную роль в последующей половой дифференциации, а не первичной детерминации пола.

Дальнейший детальный анализ Y-хромосом – специфических последовательностей у особей с инверсией пола – ограничил поиск районом размером 35 т.п.н. и привел к обнаружению гена, рассматриваемого как истинный эквивалент классического TDF (рис. 3). Такой ген получил название SRY (Sex determining Region Y gene). Приведем некоторые его

характеристики, заставляющие считаться с этим предположением. SRY расположен в полопределяющей области и содержит консервативный домен (HMG-бокс), кодирующий белок размером 80 аминокислотных остатков. Его активность отмечена накануне периода дифференциации прогонады в тестис — 10,5–12-й день эмбрионального развития у мыши и по крайней мере на этой стадии не зависит от присутствия половых клеток. Специфические точковые мутации или делеции в HMG-боксе этого гена у женщин XY приводят к инверсии пола. Перенос 14 т.п.н. фрагмента ДНК, содержащего этот ген с фланкирующими участками, в оплодотворенную яйцеклетку гомогаметной особи с помощью микроинъекции (процедура трансгенеза — переноса генов) привел к появлению “самца” с XX-кариотипом. Правда, у этого животного отмечен дефектный сперматогенез.

Белок, кодируемый HMG-боксом SRY-гена, специфически связывается с ДНК, приводя к изгибанию ее молекулы. Такая деформация структуры ДНК, индуцируемая SRY-белком или родственными ему молекулами (известно более 100 белков с HMG-доменом), может механически передаваться на расстояние и играть важную роль в регуляции транскрипции, репликации и рекомбинации. Имеется экспериментальный материал, свидетельствующий в пользу, скорее всего, опосредованного положительного контроля со стороны белкового продукта SRY-активности MIS-гена и отрицательного гена ароматазы, контролирующего превращение мужских стероидных гормонов в женские. На наличие такой специфической активности гена SRY указывает и внутриядерное расположение антител к его продукту.

Только HMG-бокс является консервативной частью гена SRY. Способность связываться с ДНК, а также специфическая локализация белкового продукта в ядре также определяются этим доменом. За пределами этой последовательности наблюдается существенное различие между гомологами SRY даже у близких видов. Человеческий SRY-ген имеет небольшой размер, не содержит интронов (вставок, непосредственно не определяющих первичную структуру белкового продукта) и кодирует белок размером 204 аминокислотных остатка. Его мышинный гомолог содержит уже 395 аминокислот и в нем 58 остатков на конце N, терминальном к HMG-боксу, а не два, как у человека. Обращается внимание и на быструю межвидовую дивергенцию аминокислотных остатков этого белка и практическое отсутствие интравидовой вариации.

SRY — один из членов большого семейства генов (более 20 членов), получившего название SOX (SRY type HMG box). Для этого семейства характерна тканеспецифическая экспрессия в раннем эмбриогенезе. Sox1, Sox2 и X-хромосомный Sox3 активны при развитии нервной системы. Sox4 работает как

активатор транскрипции в Т-лимфоцитах, а Sox5 проявляет специфическую активность во время сперматогенеза. Недавно изолирован человеческий гомолог Sox9 гена мыши, требующийся для нормального развития скелета и ответственный за CD-синдром (campomelic dysplasia).

TDF И ДРУГИЕ ГЕНЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА

В последнее время стал конкретизироваться материал об участии других генов по крайней мере в модификации эффекта TDF. Замечено, что эмбрионы и гонады будущих самцов растут быстрее и такие отличия наблюдаются у человека, мышей и крыс еще до появления первых клеток Сертоли и даже гонадного бугорка. Высказано предположение о том, что клетки прогонады должны подвергнуться определенному числу делений для дифференциации клеток Сертоли. Контроль за опережающим развитием мужских прогонады и эмбрионов может осуществлять особый ген, отличный от TDF, например гипотетический Gdy (growth and development), расположенный в Sxg-участке Y-хромосомы мышей. Описан ген WT1 у человека, вызывающий ряд наследственных заболеваний: опухоль Вильмса, синдром Дэвис–Драма, экспрессирующийся на 9-й день эмбрионального развития и контролирующей развитие недифференцированной, бисексуальной гонады. Ранее упомянутый ген Sox9, локализованный на хромосоме 11 мыши и имеющий гомолог на хромосоме 17 человека, помимо доминантного CD-синдрома — смертельного нарушения развития костей, играет роль в аутосомальной инверсии пола (аутосомальный локус SRA1). Исходя из ранней экспрессии этого гена до 13-го дня эмбрионального развития в примитивной зародышевой соединительной ткани (мезенхиме), его рассматривают как модификатор влияния SRY на экспрессию MIS, своеобразный ограничитель рамок его активности в раннем эмбриогенезе.

Исследование более 100 случаев XX индивидуумов, являющихся фенотипическими мужчинами, но не обнаруживающих присутствия гена SRY, заставило предположить существование рецессивного гена Z. Продукт этого гена является отрицательным регулятором развития тестисов: в норме функционирует у самок, а у самцов его активность блокируется геном SRY. Предполагается и существование аллели Z¹, нечувствительной к такому подавлению (супрессии).

Недавно был изолирован ген DAX1, локализованный на участке Xp21, кодирующий ядерный рецептор — молекулярный комплекс на поверхности клетки, способный распознавать химические группировки и молекулы. При дупликации он, возможно, вызывает зависимость от дозы реверсию мужского пола к женскому (DSS-мутация). Предполагается, что DAX1 чувствителен к гормонам и в увеличенной

дозе способен преодолеть сигнал SRY и сдвигать развитие гонад в направлении яичника. Этот ген рассматривается как реликт более примитивной X-хромосомной системы детерминации пола. Кодированный им рецептор родствен стероидогенному фактору SF1, экспрессия которого отмечена в недифференцированной прогонаде у мышей. Мутации по SF1-гену могут приводить к отсутствию гонад у обоих полов. Предполагается и его участие в контроле активности гена антимюллеровского гормона (MIS) в клетках Сертоли.

Наличием особого аутосомного гена Tda^{lb}, предположительно сцепленного с хромосомами 2 или 4 и взаимодействующего с TDF, объясняют появление овотестиса или яичника у мышей с кариотипом XY. Феномен наблюдается в том случае, когда Y-хромосома *M.m. domesticus* (или *poschiavinus*) — Y^{DOM} попадает в геном с аутосомами *M.m. musculus*. Обычно в таких скрещиваниях используются самки C57BL/CJ (B6). Степень выраженности этого феномена зависит от типа Y^{DOM}-хромосомы. Интересно, что в присутствии трансгена, содержащего аллель гена SRY из *M.m. musculus*, у таких гибридов развиваются исключительно тестисы. В каждом из исследуемых подвидов обнаружены различия, касающиеся размера продукта гена Sry и пучка тринуклеотидов в его участке, кодирующем богатый гистидиновыми и глютаминовыми остатками С-концевой домен. Удалось продемонстрировать, что ген Sry экспрессируется нормально у особей с генотипом B6Y^{DOM}, хотя и инактивируется несколько позднее. Экспрессия же других генов, связанных с появлением тестисов (MIS, P450-ароматаза, 17(α)-гидролаза), задержана в овотестисах или отсутствует в яичниках. Авторы считают, что наблюдаемые эффекты — результат каких-либо нарушений экспрессии генов, участвующих в определении пола на более поздних этапах, чем Sry, например Tda^{lb}. У мышей выявлена и другая аутосомная мутация — Tas, расположенная в хромосоме 17, и ряд факторов со сходным эффектом, приводящим к появлению XY-самок и гермафродитов с овотестисами.

Клонирован и локализован в участке Xq11-12 ген рецептора андрогенов человека, ответственный за тестикулярную феминизацию (мутация Tfm), известную для ряда объектов. Изучение наследования XY-синдрома реверсии пола у лошадей показало, что в такой передаче участвуют по крайней мере два гена: основной полопределяющий и ген(или гены)-модификатор. Четкого сцепления этих генов не установлено. У самцов американских коккер-спаниелей с XX-кариотипом также предлагается аутосомный ген — детерминатор инверсии пола. Описана аутосомная мутация Polled, приводящая у коз к появлению тестикулярных тканей у особей с XX-кариотипом. Недавно сразу в двух лабораториях для этого случая удалось исключить возможность Y-хромосомных транслокаций или химеризма с помощью молекулярной гибридизации с пробам SRY-

и ZFY-генов. Сходная ситуация описана и применительно к довольно частому (0,1–0,6%) появлению интерсексов у свиней.

Следовательно, активность TDF-SRY является недостаточным условием появления семенников из потенциально бисексуальных прогонад у млекопитающих. Для появления клеток Сертоли, семявыносящих канальцев, клеток Лейдига и т.д. требуется его взаимодействие со многими аутосомальными и X-хромосомными факторами, детали которых еще только предстоит понять. Некоторое представление о возможных дополнительных генетических факторах контроля первичной детерминации пола и их взаимодействии дает табл. 2.

Y-ХРОМОСОМА И ПОЛ

Детерминация пола — сложный многокомпонентный процесс, для его понимания нужно решить множество вопросов. Один из них — биолого-генетическая значимость Y-хромосомы. Для этой гомосомы характерны специфические черты, резко отличающие ее от других хромосом набора: 1) обедненность генами; 2) обогащенность повторяющимися блоками нуклеотидов, и в частности многократно tandemно повторяющимися (сателлитной ДНК). Присутствие значительных гетерохроматиновых районов; 3) наличие области гомологии с X-хромосомой — псевдоаутосомальной области (PAR).

Y-хромосома, как правило, невелика — 2–3% гаплоидного генома. Тем не менее кодирующей способности ее ДНК у *Homo sapiens* достаточно по крайней мере для нескольких тысяч генов. Однако у этого объекта в Y-хромосоме выявляется всего около 40 обогащенных ГЦ-парами так называемых ЦРГ-островков, обычно фланкирующих большинство генов. Реальный же список генетических функций, связанных с этой хромосомой, вдвое меньше. Фенотипическое влияние этой хромосомы у мышей ограничено весом тестисов, уровнем тестостерона, серологического H — Y-антигена, чувствительностью органов к андрогенам и сексуальным поведением. Обращает на себя внимание и тот факт, что большая часть генов этой хромосомы имеет X-хромосомные аналоги. Это касается и генов, непосредственно вовлекаемых в определение пола: ZFX/ZFY, SOX3/SRY, UBE1X/UBE1Y, SMCX/SMCY.

Велика в этой хромосоме и доля разнообразных повторов, включая и многократные. Нужно отметить, что большинство Y-хромосомных последовательностей гомологичны ДНК X-хромосомы или аутосом и лишь часть из них строго уникальна. Нередко количественное преобладание в этой хромосоме некоторых семейств повторов. Наличие таких относительно специфических для Y-хромосомы блоков нуклеотидов (например, известны Bkm-повторы) рассматривают иногда как специфический

Таблица 2. Гены, предположительно участвующие в детерминации пола у млекопитающих помимо SRY и ZFY

Генетический фактор	Участие в контроле детерминации пола
Gpy	Контролирует скорость роста эмбрионов и прогонад
WT1	Влияет на развитие прогонады примерно на 9-й день эмбрионального развития. Связан с наследственными заболеваниями: опухоль Вильмса, синдром Дэнис–Драма
Sox9	Содержит HMG-бокс. Ответствен за CD-синдром и ауtosомальную инверсию пола. Экспрессируется до 13-го дня эмбрионального развития. Возможный модификатор влияния SRY на MIS-ген
Z	Отрицательный регулятор развития тестисов. В норме активен у самок, у самцов заблокирован работой SRY. Существует мутация Z ⁱ , нечувствительная к эффекту воздействия TDF-SRY
DAX1 (DSS)	Локализован в районе Xp21. В двойной дозе способен преодолевать эффект SRY и сдвигать развитие гонад в направлении яичника. Кодирует ядерный рецептор. Ответствен за дозозависимую реверсию пола
Tda ^{1b}	Предположительно связан с хромосомами 2-й и 4-й мыши. Приводит к появлению овотестисов у B6Y ^{DOM} -гибридов
Tas	Ауtosомная мутация на хромосоме 17 мышей, приводящая к появлению XY-самок
MIS	Ген антимюллеровского гормона, секретируется клетками Сертоли в ответ на активность SRY. Ингибирует развитие Мюллерова протока. Локализован на хромосоме 19 человека – p13,2–p13,3
Tfm(hAR)	Ген рецептора андрогенов. У человека локализован на X-хромосоме (Xp11-12). Вызывает тестикулярную феминизацию
Гены сперматогенеза и спермиогенеза	Известен ряд факторов: Sry, SMSY, UBE1Y, TSPY, YRRM, проявляющих такую активность
SF1	Ген рецептора стероидных гидролаз. У человека предположительно локализован в участке 9q33. Необходим для развития недифференцированной прогонады и регуляции активности MIS-гена в клетках Сертоли
Od	Гипотетический X-хромосомный или ауtosомный ген, ответственный за дифференциацию прогонады в яичник и отрицательно регулируемый геном SRY

инструмент ее конденсации в клеточном цикле или даже определения пола.

Наличие псевдоауtosомальных областей, обеспечивающих мейотическое спаривание и рекомбинацию, обычно рассматривается как необходимое условие фертильности. Интересно, что размер участка мейотического спаривания существенно длиннее PAR. У человека имеются два псевдоауtosомальных района на вершине короткого (2,6 · 10⁶ п.н.) и длинного (0,4 · 10⁶ п.н.) плеч X-хромосомы. Однако только для первого из них установлены облигатный обмен в мейозе, наличие хиазм, влияние на фертильность. Сравнительный анализ указывает на существование различия в генетическом содержании PAR у изученных видов (мышь, человек, приматы).

Высказано предположение о происхождении половых хромосом млекопитающих от предковой ауtosомы в результате независимых циклов: добавление – рекомбинация – деградация. PAR, по такой терминологии, представляет собой лишь как бы реликт такого последнего добавления. Далее происходят деградация и потеря соответствующих Y-хромосомных частей и инактивация X-хромосомы. Все гены, представленные в Y-хромосоме, или имеют реальную селективную ценность (SRY, ZFY, UBE1Y, YRRM, TSPY1, RSP4Y), или находятся на пути исчезновения (STS, KAL, AMEL, PBD, псевдогены). Каждый Y-хромосомный ген, быстро дивергирующий, амплифицирующийся (как бы размножаю-

щийся) или склонный к исчезновению, имеет своего гомолога в X-хромосоме, более консервативного и активного у обоих полов. Так, Sox3, предполагаемый X-хромосомный гомолог SRY, кодирует почти идентичные продукты у человека, мыши и сумчатых, экспрессируется в нервной системе обоих полов. SRY быстро дивергирует и активен только в гонадном бугорке. Этот Y-хромосомный ген подвергается амплификации у многих мышей и крыс. Схема эволюции генов Y-хромосомы представлена на рис. 4.

Таким образом Y-хромосома, единственная в геноме млекопитающих, не работает непосредственно на реализацию фенотипа. Ее генетическая значимость связана с преемственностью между поколениями, в частности с контролем гаметогенеза, первичной детерминацией пола. Жесткий отбор действует только на немногие ее гены, остальная ДНК более пластична. Можно предположить связь между спецификой детерминации и дифференциации пола и репродуктивной межвидовой изоляцией. Возможно, быстрая дивергенция этой системы лежит в основе сформулированного еще в 1922 году Д. Халданом постулата о стерильности или отсутствии гетерогаметного пола при отдаленной гибридизации. По крайней мере один из примеров вклада системы определения пола в феномен репродуктивной изоляции – феминизация самцов у гибридов *M. musculus* и *M. domesticus*.

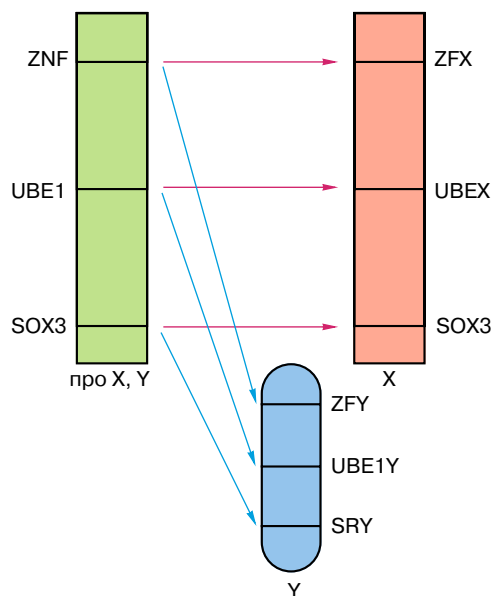


Рис. 4. Схема определения эволюции генов Y-хромосомы в связи с определением и дифференциацией пола. Гены Sox3 и UBE1 принадлежали к консервативной части прогоносомы, ZNF – к более новой ее части. На постепенно деградирующей Y-хромосоме аллель Sox3 → SRY приобретает тестисообразующие функции, а аллели UBE1 → UBE1Y и ZNF → ZNY – роль в сперматогенезе. Другие X-хромосомные гены на Y-хромосоме исчезли в результате мутаций, делеций и т.д. Роль в сперматогенезе не панацея от потери – ген UBE1Y утерян у приматов, возможно, за счет выполнения его функций другими генами (SMCY, YRRM и т.д.)

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. РАЗНООБРАЗИЕ СИСТЕМ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА

Первоначально Y-хромосома, очевидно, контролировала “гаметный пол” – гаметогенез и не была связана с первичным определением пола, и только у позвоночных к ней приходит эта функция. Ее влияние особенно сильно у млекопитающих. В частности, предполагается, что такая специфическая Y-хромосомная система “придумана” специально для обеспечения развития эмбрионов обоих полов в “море материнских эстрогенов” – женских половых гормонов. Прогонады у этих объектов успевают сделать выбор в пользу тестисов с помощью специального генетического блокирующего механизма еще до воздействия женских гормонов. Усиливается взаимосвязь гаметного и соматического пола. Направление дифференциации половых клеток на определенном этапе зависит не от их собственной хромосомной конституции, а от окружения, созданного соматическими клетками гонад. В критический пренатальный (предродовой) период первичные половые клетки в яичниках входят в мейоз в отли-

чие от таковых в тестисах, подвергающихся блоку мейоза и вхождению в сперматогенез. Далее опять важна роль кариотипа – присутствие двух X-хромосом или Y-хромосомы.

Консерватизм гонадогенеза, наличие “древних” генов детерминации не отвергают, а скорее подразумевают радикальное изменение полопределяющей системы даже во время эволюции Eutheria. У млекопитающих реально существуют варианты определения пола без участия SRY-гена или Y-хромосомы. Хромосомная инверсия пола в норме встречается у многих видов (*Myopus schisticolor*, *Acodon azazae*,

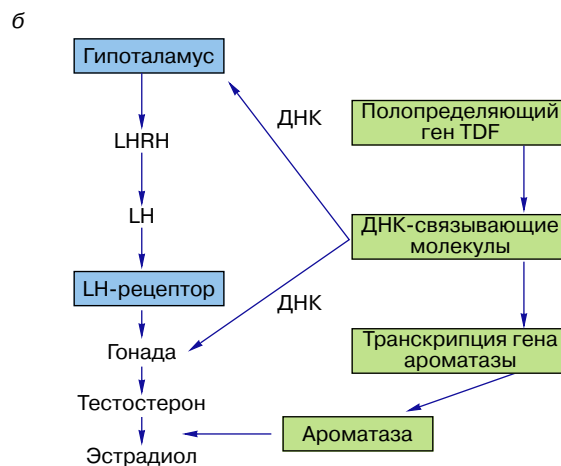
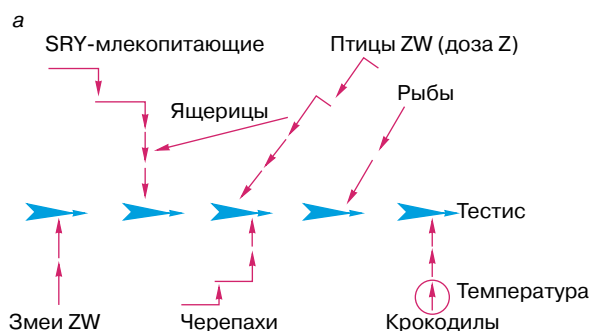


Рис. 5. Возможные пути генетического контроля гонадогенеза у позвоночных: а – предполагается наличие некоторого сходного многоэтапного механизма гонадогенеза и разнообразие генетического контроля этого процесса в разных систематических группах позвоночных.

➡ этап гонадогенеза
→ положительный контроль
→ отрицательный контроль

б – гипотетический механизм температурного варианта определения пола (TSD). Этапы, взятые в рамки, предполагают температурочувствительность. LH и LHRH – лютеинизирующий гормон и его релизинг-агент, положительно контролирующий синтез LH. Предполагаются полспецифические различия по ДНК

Microtus cambrae и др.) за счет генов-модификаторов Х-хромосомного, Y-хромосомного или аутосомного происхождения. Описаны даже фертильные кобылы с ХУ-кариотипом. Для сумчатых характерна дифференциация мошонки, молочных желез, направляющей связки тестисов, влагалищного отростка еще до появления гонад. Развитие же Вольфова и Мюллерова протока, как и у всех вышших зверей, находится под гормональным контролем. Для кенгуру отмечено практическое отсутствие Х–Y-хромосомного спаривания, рекомбинация может быть ограничена только очень небольшой областью гомологии. Y-хромосома быковых избегает значительных блоков сателлитной ДНК и гетерохроматина, тем не менее является наиболее вариабельным элементом их кариотипа. ZW/ZZ-система определения пола у птиц аналогична XX/XY-хромосомному варианту млекопитающих. Гонадный пол у птиц можно переделать с помощью инъекции ингибитора ароматазы, что невозможно у млекопитающих несмотря на сходство метаболизма стероидов. Описаны виды рыб с хорошо дифференцированными половыми хромосомами, обладающие способностью преодоления генетического механизма гонадогенеза при помощи факторов внешней среды.

Примеры разнообразных вариантов системы определения пола можно продолжить. Какое-то представление о принципиальных возможностях вариации его детерминации дает рис. 5. В настоящее время поняты лишь некоторые узловые элементы такой системы. Даже идентификацию предполагаемых TDF-SRY подобных генов млекопитающих, переделку гонадного пола при его переносе мышам нужно рассматривать как лишь многообещающее начало исследования такого истинного шедевра природы, какими являются половой диморфизм и сексуальная репродукция. Недавние эксперименты по “заселению” стерильных тестисов мышей при помощи переноса стволовых клеток спермато-

гиев, единственных потенциально тотипотентных (способных к дифференцировке по многим направлениям) диплоидных клеток у взрослых млекопитающих, — новый впечатляющий успех исследований в этом направлении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мак-Ларен Э. Детерминация пола у млекопитающих // Онтогенез. 1993. Т. 24. С. 5–30.
2. Тихомирова М.М. Детерминация и дифференциация пола у млекопитающих // Успехи соврем. генетики. 1985. № 13. С. 173–201.
3. Максимовский Л.Ф. Возможности направленного воздействия на формирование соотношения полов у животных // С.-х. биология. 1988. № 1. С. 10–19.
4. Мак-Ларен Э. Определение пола у млекопитающих. В сб.: Проблемы генетики и теория эволюции / Под ред. В.К. Шумного, А.О. Рувинского. Новосибирск: Наука, 1991. С. 115–124.
5. Попов Л.С., Рекеш А.И. Молекулярные механизмы регуляции пола у млекопитающих и проблемы фракционирования сперматозоидов. М.: Изд-во ИАЭ, 1990.
6. Кауфман З.К. Эволюция и размножение пола. Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 1994.
7. Осипова Г.Р. Генетика развития пола и его нарушения // Генетика. 1996. Т. 32, № 2. С. 184–191.

* * *

Александр Федорович Смирнов, доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией молекулярной организации генома ВНИИ генетики и разведения животных Российской академии сельскохозяйственных наук. Область научных интересов: структура и функция хромосом, молекулярная генетика и цитология. Автор около 120 публикаций.