

HOW GENES CONTROL DEVELOPMENT OF SEXES IN DROSOPHILA

I. F. ZHIMULEV

Sexual differences in Drosophila are determined by differential activity of specific genes. The cascade of genetic events is described, where one gene product activates promoters of the downstream genes. The chain of these gene interactions results in formation of the male and female sexes, and dosage compensation of the genes located in the sex chromosomes.

Половые различия у дрозофилы определяются дифференциальной активностью специфических генов. Описан каскад генетических событий, в которых продукт одного гена является стимулятором активности последующих генов. Цепь таких взаимодействий приводит к формированию мужского или женского пола, формированию половых органов и осуществлению компенсации дозы генов, расположенных в половых хромосомах.

© Жимулев И.Ф., 1997

КАК ГЕНЫ КОНТРОЛИРУЮТ РАЗВИТИЕ ПОЛА У ДРОЗОФИЛЫ

И. Ф. ЖИМУЛЕВ

Новосибирский государственный университет

ВВЕДЕНИЕ

Давно замечено, что соотношение мужского и женского полов в потомстве фактически от любого скрещивания близко соответствует соотношению 1 : 1, то есть 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, а 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, а в кариотипе другого пола две разные половые хромосомы.

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, плодовая мушка дрозофила, водяной клоп *Ligaeus*, по имени которого и назван данный тип определения пола.

Еще один тип, названный по имени другого водяного клопа — *Protenog* и встречающийся у некоторых бабочек и червей, связан с наличием у самцов лишь одной хромосомы (тип X0), а у самок двух X хромосом (тип XX).

Особый тип хромосомного определения пола найден у птиц, некоторых бабочек, рыб, земноводных и цветковых растений. У них гетерогаметным (то есть с разными половыми хромосомами) полом является женский, и самки имеют набор половых хромосом ZW или Z0, в то время как самцы — ZZ. Известны и некоторые другие типы определения пола.

Совершенно очевидно, что в приведенных выше случаях колоссальные и легко фиксируемые даже на первый взгляд различия в организации и физиологии особей разных полов развиваются на фоне полностью идентичных у самцов и самок наборов генов, расположенных в большей части хромосом, не связанных с половыми различиями кариотипов, — аутосомах. 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, а отнюдь не на формирование половых различий взрослой особи самца. Более того, при потере Y-хромосомы особь XO также является самцом. Каким же образом формируются самцы и самки у дрозофилы?

БАЛАНСОВАЯ ТЕОРИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛА У ДРОЗОФИЛЫ

В 1921 году один из основоположников современной генетики — Кэлвин Бриджес обнаружил у *Drosophila melanogaster*, имеющих в гаметах четыре хромосомы, несколько самок, имевших триплоидный набор хромосом, то есть 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 восемь 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, то есть отношение числа X-хромосом к числу аутосом, составляет 0,5, были нормальными самцами.

5–6. Особи 2X : 3A и (2X + Y) : 3A, у которых отношение числа X-хромосом к числу аутосом варьировало между 0,5 и 1, оказались особенно интересными; у них было найдено смешанное проявление мужских и женских половых признаков; К. Бриджес назвал их интерсексами. У таких мух полностью отсутствовали секторы тела, детерминированные по полу, либо в ходе развития до определенного момента формировались органы, присущие одному полу, а затем — органы другого пола.

7. Если число наборов аутосом увеличивалось до трех при наличии одной X-хромосомы (X : 3A), развивался “сверхсамец” — организм с гипертрофированными признаками самца, однако стерильный.

8. И наконец, увеличение числа X-хромосом до трех при диплоидном наборе аутосом (3X : 2A) ведет к формированию “сверхсамки” с ненормально развитыми яичниками и другими нарушениями признаков пола.

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

Балансовая теория оказалась неприменимой к человеку и высшим растениям. У человека Y-хромосома играет другую роль. Известно, что XX и XY — соотношения половых хромосом у человека приводят к образованию нормальных женской и мужской особей соответственно. Однако при отсутствии Y-хромосомы формируется особь женского пола при любом числе X-хромосом. Особь XO развивается главным образом по женскому типу, но имеет отличия от нормы, известные под названием “синдром Тернера”. Такие особи возникают с частотой 1/5000 новорожденных.

При наличии трех или даже четырех X-хромосом, но в присутствии Y-хромосомы формируется мужской тип тела, правда тоже с отклонениями, известными под названием “синдром Клиффелтера” (1/500 новорожденных). Таким образом, путей определения пола оказалось довольно много, но большинство из них определяются хромосомами и в конечном счете генами.

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).

Эксперименты показывают, что результаты соотношения числа X-хромосом и аутосом улавливаются геном *Sxl* на ранней стадии эмбрионального развития. Этот ген, в свою очередь, контролирует три различных направления дифференцировки: формирование половых признаков в соматических клетках и клетках зародышевого пути, а также контроль дозовой компенсации (рис. 1). Каким образом это происходит? По данным швейцарского ученого Р. Нётигера, 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, так как он считается с генов, локализованных в двух материнских аутосомах. Количество продуктов, считанных с генов *sis-a* и *sis-b*, зависит от того, сколько X-хромосом у особи — две или одна. Поэтому комплекс белков *sis/da* имеет отношение составляющих

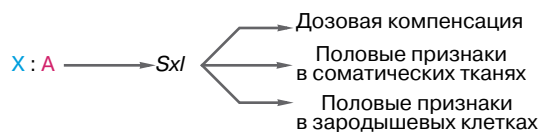


Рис. 1. Первичный сигнал, возникающий из соотношения числа X-хромосом и аутосом контролирует все аспекты половой дифференцировки через действие ключевого гена *Sxl*. У самок, имеющих отношение X : A, равное единице, ген *Sxl* активен. У самцов, имеющих отношение X : A, равное 0,5, ген *Sxl* остается неактивным. Состояние активности гена *Sxl* регулирует развитие трех процессов, находящихся под его контролем: дозовой компенсации, развития половых признаков в соматических клетках и зародышевых клетках [4]

его компонентов 1 : 2 у самцов или 2 : 2 у самок. Эти белковые продукты присоединяются к регуляторной зоне ключевого гена, определяющего пол, — *Sxl*. Эта зона содержит два участка, стимулирующие транскрипцию РНК с данного гена: ранний и поздний промоторы (рис. 2). Только в том случае, если комплексный белок *sis/da* содержит две дозы *sis*, он может активировать начало транскрипции с раннего промотора (рис. 2, P_E). 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.

Ген *Sxl* содержит восемь участков, кодирующих последовательность аминокислот (рис. 3, 1–8), — экзонов, разделенных некодирующими районами (рис. 3). У самцов (X : A = 0,5) при активировании позднего промотора (P_L) считывается третий экзон (рис. 3), в котором расположен стоп-кодон UGA, на котором трансляция останавливается и белок получается усеченным. При отсутствии нормального функционального белка 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. 3). Хотя белок другого гена — *tra2* присутствует у обоих полов, при отсутствии функционального продукта гена *tra* нормальный мультиферментный комплекс не образуется. Более того, при отсутствии нормальных продуктов генов *tra* и *tra2* формируется особый *dsx^M* (самцовый) *dsx*-белок, считанный с определенного набора экзонов (см. рис. 3). Такой белок репрессирует развитие признаков женского пола. В результате нарушений действия каскада 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, взаимодейст-

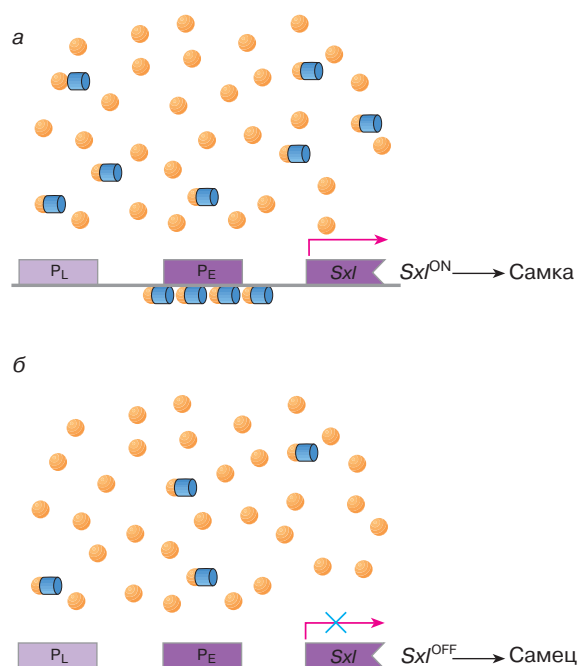


Рис. 2. Модель механизма включения гена *Sxl* у разных полов. У самок (а) и самцов (б) белки, кодируемые генами из X-хромосомы (цилиндры), формируют активные комплексы с белками, кодируемыми генами, расположенными в аутосомах (шарики). Самки имеют в 2 раза больше комплексных молекул (мультиферментных комплексов), чем самцы. Наличие большого числа этих комплексных 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 не способно активировать P_E промотор. Ген *Sxl* не включается (Sxl^{OFF}), что и приводит в конечном счете к развитию половых признаков самца [3]

вует с белком гена *tra2*, регулирует образование специфической для самок РНК *dsx^F* (см. рис. 3). 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.

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

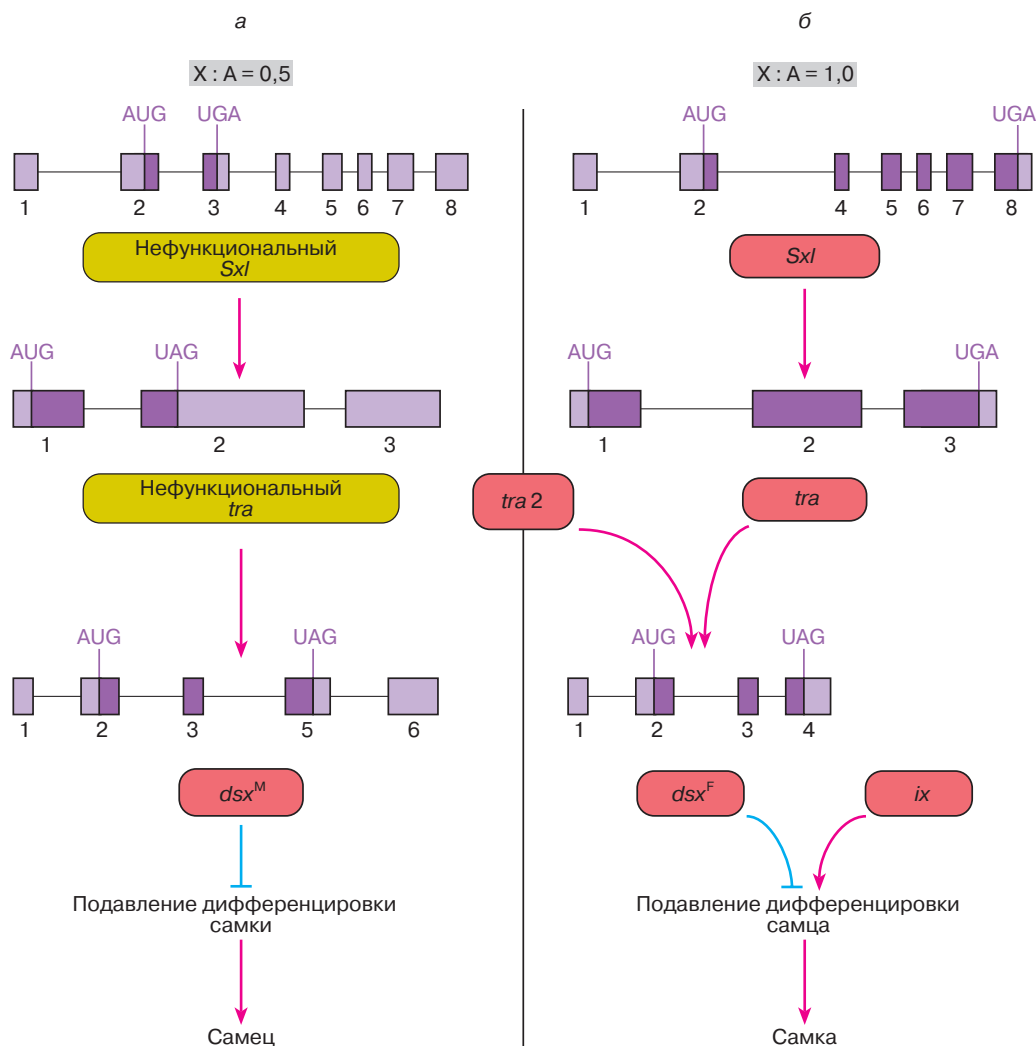


Рис. 3. Каскад генных взаимодействий, приводящих к формированию соматических половых признаков самца (а) и самки (б) [3]. В каскад вовлечены гены *Sxl*, *tra*, *tra2*, *ix* и *dsx*. Прямоугольники с цифрами обозначают кодирующие части генов – экзоны. Темные части экзонов представляют собой участки, кодирующие аминокислоты

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, и уровень экспрессии у самок уменьшается до уровня единственной X-хромосомы самца.

Основные открытия в области дозовой компенсации у дрозофилы сделаны в результате анализа политенных хромосом слюнных желез личинок (см. ст.: *Жимулев И.Ф.* Современные представления об организации и функционировании политенных хромосом // Соросовский Образовательный Жур-

нал. 1997. № 11). 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. 4). 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 биохимические эксперименты показали, что в единственной политенной X-хромосоме самца дрозофилы количество негистоновых белков примерно в 1,5 раза больше, чем было бы в одной X-хромосоме самки. Разрыхленность структуры и

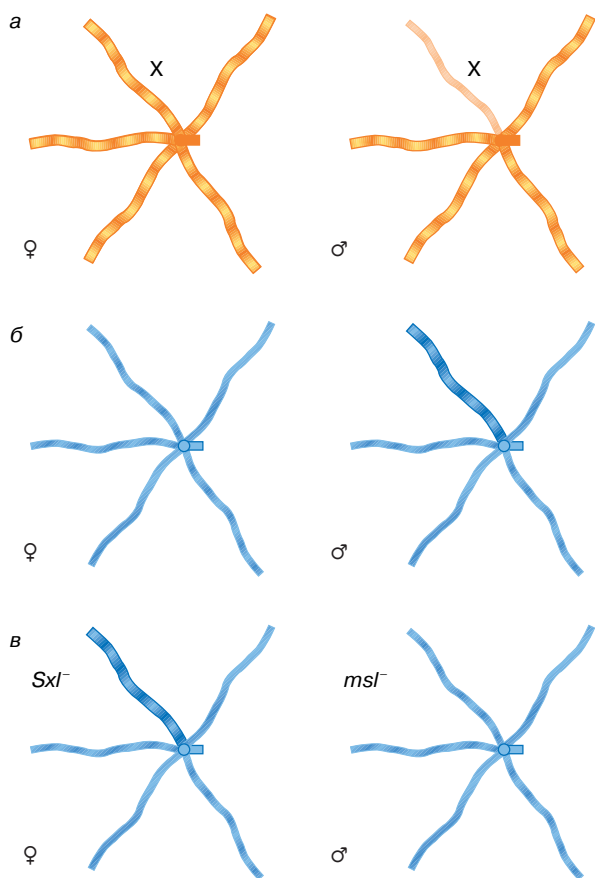


Рис. 4. Морфология (а) и присутствие специфических белков (б) в X-хромосомах у самцов и самок дрозофилы, а также изменение этих свойств (в) у мутантов, влияющих на развитие пола (Henikoff, Meneely, 1993): а – у самок все политенные хромосомы кариотипа, включая X-хромосому, имеют одинаковую степень разрыхленности. У самцов X-хромосома выглядит значительно более диффузной, чем остальные хромосомы у самцов и все хромосомы у самок; б – белок, кодируемый геном *mle*, 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*

обогатенность негистоновыми белками являются структурной основой для дозовой компенсации. Эксперименты показали, что интенсивность транскрипции в одной X-хромосоме самца в 2 раза выше, чем в одной X-хромосоме самки.

Оказалось, что существует особый механизм, контролирующий формирование разрыхленной структуры единственной X-хромосомы самца. Выделены продукты четырех генов: *msh-1*, *msh-2*, *msh-3* и *mle* (MSL-белки), участвующие в этом процессе. Все четыре MSL-белка образуют комплекс и связы-

ваются с сотнями участков X-хромосомы самца, обеспечивая диффузность ее структуры. Присутствие в мультиэнзимном комплексе каждого из MSL-белков необходимо для нормального функционирования всего комплекса.

В белке MSL-2 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-м положении в молекуле H4, у них ацетилирована, то есть содержит ацетильный остаток. Оказалось, что такие модифицированные (или H4Ac16) гистоны в хромосомах локализуются в тех же самых районах, что и MSL-белки.

Предполагают, что MSL-белки взаимодействуют с регуляторными элементами хромосом, контролирующими транскрипцию и структуру хроматина. Молекулярный анализ гена *mle* показал, что он имеет гомологию с известными ранее генами, участвующими в расплетании двух цепей ДНК, что необходимо для репликации, транскрипции и других процессов (фермент хеликаза).

Белки MSL обладают другой особенностью. Недавно удалось показать, что антитела, выработанные к белкам MSL *Drosophila melanogaster*, – вида, повсеместно используемого в генетических исследованиях, – прекрасно связываются 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 присоединиться к их X-хромосомам. В случае мутации гена *Sxl* белки MSL появляются в X-хромосомах самок (см. рис. 4), нарушая тем самым весь процесс дозовой компенсации. Полагают, что в первую очередь белок гена *Sxl* взаимодействует с геном *msh-2* следующим образом (рис. 5).

У самок, у которых отношение числа X-хромосом к числу аутосом составляет 1, ген *Sxl* находится во “включенном” состоянии (см. выше), и он подавляет трансляцию мРНК гена *msh-2*. Специфические районы РНК гена *msh-2*, называемые UTR,

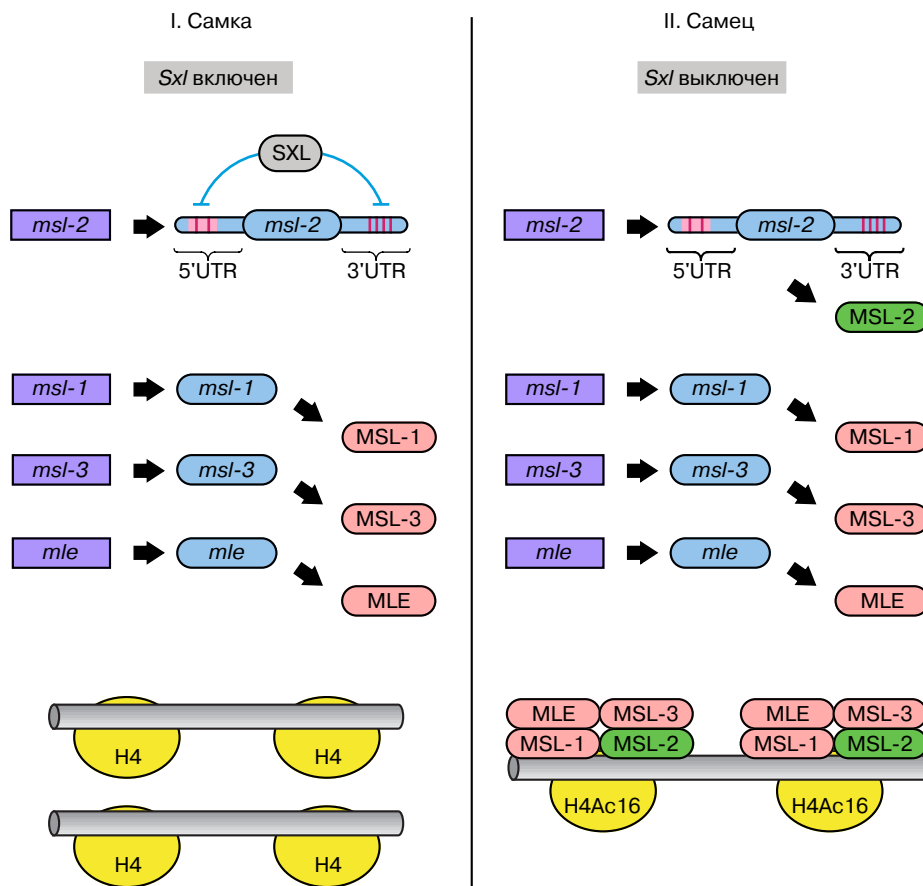


Рис. 5. Схема регуляции дозовой компенсации у дрозофилы [1]

блокируются белком SXL (см. рис. 5, I). В итоге продукт гена *msl-2* не поступает в ядро. При его отсутствии 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. 5, I).

У самцов с отношением X-хромосом и аутосом, равным 0,5, ген *Sxl* выключен (см. выше). При отсутствии белка *Sxl* ген *msl-2* экспрессируется полностью, и полный набор белков MSL ассоциируется с X-хромосомой самца. В результате происходит и ацетилирование гистонов H4 и как следствие — изменение структуры хроматина и последующая гиперактивация транскрипции.

Таким образом, используя современные методы молекулярной биологии и генетического клонирования, удалось разгадать сложную систему взаимодействий генов, протекающих в развитии и приводящих в итоге к дифференцировке полов у дрозофилы.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. *Bashaw G.J., Baker B.K.* // Curr. Opinion in Genetics and Development. 1996. Vol. 6. P. 496–501.
2. *Bridges C.B.* // Science. 1921. Vol. 54. P. 252–254.
3. *Belote J.M.* // Seminars in Devel. Biol. 1992. Vol. 3. P. 319–330.
4. *Nöthiger R.* // Verh. Dtsch. Zool. Ges. 1992. Vol. 85, № 2. S. 177–183.
5. *Henikoff S.* // Cell. 1993. Vol. 72. S. 1–2.
6. Основы цитогенетики человека / Под ред. А.А. Прокофьевой-Бельговской. М.: Медицина, 1969. 543 с.
7. *Прокофьева-Бельговская А.А.* Гетерохроматические районы хромосом. М.: Наука, 1986. 431 с.
8. *Жимулев И.Ф.* Хромомерная организация политенных хромосом. Новосибирск: Наука, 1994. 565 с.
9. *Нестерова Г.Б., Закиян С.М.* // Генетика. 1994. Т. 30, № 3. С. 293–317.

* * *

Игорь Федорович Жимулев, зав. лабораторией молекулярной цитогенетики Института цитологии и генетики Российской академии наук, доктор биологических наук, профессор Новосибирского государственного университета. Работает в области молекулярной организации хромосом. Автор более двухсот публикаций, в том числе четырех монографий.