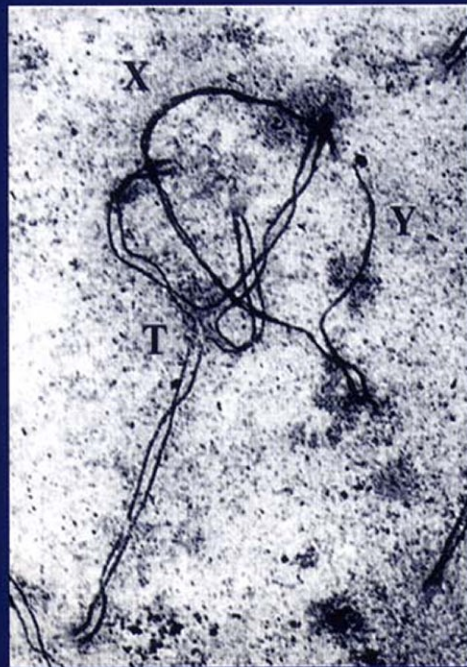
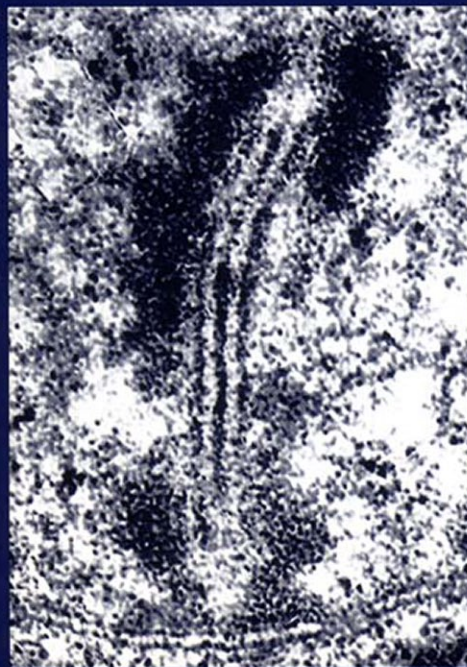


Ю.Ф. БОГДАНОВ, О.Л. КОЛОМИЕЦ

Синаптонемный комплекс –

индикатор динамики мейоза
и изменчивости хромосом



Ю.Ф. Богданов, О.Л. Коломиец. Синаптонемный комплекс — индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом. Москва: Товарищество научных изданий КМК. 2007. 359 стр.

В книге изложены сведения о синаптонемном комплексе (СК) — специфической структуре мейотических клеток большинства эукариот — и примеры исследования этой структуры для решения задач цитогенетики. Часть I книги описывает структуру и функции СК, его изменчивость и роль в возникновении и эволюции мейоза. Часть II содержит оригинальные исследования ультраструктуры СК у растений, грибов и животных. Часть III посвящена исследованиям авторов, в которых СК использован как «инструмент» цитогенетики для кариотипирования клеток, изучения сложных случаев половых хромосом и В-хромосом, поведения в мейозе хромосом при множественных Rb-транслокациях, использованию СК как индикаторов спонтанных и индуцированных хромосомных перестроек в мейозе у млекопитающих и растений. Изложены оригинальные исследования, в которых СК использован для выявления аномалий мейоза и причин бесплодия у человека и генетического риска при побочном действии медицинских препаратов, включая антибиотики.

Книга предназначена для цитологов, цитогенетиков и медицинских генетиков преподавателей, аспирантов и студентов биологических и медицинских вузов.

Yu.F. Bogdanov, O.L. Kolomiets. Synaptonemal Complex — Indicator of the Dynamics of Meiosis and Chromosome Variation. Moscow: KMK Scientific Press. 2007. 359 pages.

The book considers the synaptonemal complex (SC), a specific structure occurring in meiotic cells of most eukaryotes, and examples of its use to solve cytogenetic problems. Part I describes the structure and functions of the SC, its variation, and its role in the origin and evolution of meiosis. Part II describes the original data on the SC ultrastructure in plants, fungi, and animals. Part III focuses on the original studies that have employed the SC as a cytogenetic tool in cell karyotyping, examining the sex and B chromosomes, in complicated cases, analyzing the behavior of meiotic chromosomes in multiple Rb translocations, and detecting spontaneous and induced chromosome rearrangements in meiosis in mammals and plants. Original results are described for the use of the SC to detect meiotic abnormalities and identify the causes of sterility in humans, as well as to assess the genetic risk associated with administration of some drugs, including antibiotics.

The book is of interest for cytologists, cytogeneticists, and medical geneticists, as well as for teachers, postgraduates, and students of biological and medical schools.

ОГЛАВЛЕНИЕ

От редактора	7
Предисловие авторов	9
Введение	11
Introduction	13
Часть I. Общие сведения о синаптонемном комплексе	
Глава 1. Преобразования хромосом в ходе мейоза	15
Глава 2. Синаптонемный комплекс, его структура и функции	32
Глава 3. Роль синаптонемного комплекса в возникновении и эволюции мейоза ...	56
Заключение Части I	68
Часть II. Синаптонемный комплекс — индикатор динамики мейоза	
Глава 4. Ультраструктура хромосом и синаптонемного комплекса в мейозе у лилии <i>Lilium candidum</i>	70
Глава 5. Особенности мейоза и синаптонемный комплекс у аскариды <i>Ascaris suum</i> ..	80
Глава 6. Синаптонемные комплексы ржи <i>Secale cereale</i> и динамика их деградации	105
Глава 7. Мейоз и синаптонемный комплекс у шампиньона <i>Agaricus bisporus</i> ..	119
Глава 8. Динамика синаптонемных комплексов в мейозе у мыши	123
Заключение Части II	135
Часть III. Синаптонемный комплекс — индикатор изменчивости хромосом	
Глава 9. Картирование на основе СК и применение этого метода в цитогенетике	137
Глава 10. Синаптонемные комплексы половых хромосом млекопитающих на примере рода <i>Ellobius</i>	144
Глава 11. Синаптонемные комплексы при Робертсоновских транслокациях и нестабильном кариотипе	155
Глава 12. Синаптонемные комплексы А- и В-хромосом восточно-азиатской мыши <i>Apodemus peninsulae</i>	168
Глава 13. Синаптонемные комплексы — индикаторы индуцированных хромосомных перестроек	178
Глава 14. Синаптонемные комплексы — индикаторы гетерозиготных инверсий	195
Глава 15. Синаптонемные комплексы — индикаторы мутаций специфических генов мейоза	210
Глава 16. СК как индикатор патологии сперматогенеза и причин бесплодия у мужчин с нормальным кариотипом	225

Глава 17. СК — индикатор аномалий мейоза при побочном действии противомикробных антибиотиков	252
Глава 18. Специфические и неспецифические нарушения структуры СК и хроматина у мышей после введения противоопухолевых препаратов, ингибиторов ДНК-топоизомераз	264
Глава 19. Анализ СК у мышей после введения неоаквасепта — средства для обеззараживания питьевой воды	280
Заключение части III	286
Послесловие. Перспективы исследований	290
Рефераты глав и заключения на английском языке	294
Цитированная литература	310
Предметный указатель	352

ЧАСТЬ I.

ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О СИНАПТОНЕМНОМ КОМПЛЕКСЕ

Глава 1.

ПРЕОБРАЗОВАНИЯ ХРОМОСОМ В ХОДЕ МЕЙОЗА

Клетки делятся путем мейоза один раз в жизненном цикле любого эукариотического организма. Результаты мейоза сложнее, чем результаты митоза, ибо в ходе мейоза реплицированные хромосомы не только передаются из материнских клеток в дочерние, но еще и число их уменьшается вдвое, и они разделяются точно на два гаплоидных генома. При этом в ходе деления происходит рекомбинация сегментов гомологичных хромосом: генетический обмен внутри групп сцепления генов. Все эти серьезные отличия мейоза от митоза служат достаточной причиной для того, чтобы структура хромосом в мейозе отличалась от их структуры в митозе, и она действительно отличается. Можно добавить, что так называемый акроматический аппарат клеточного деления в мейозе (веретено клеточного деления и принцип его работы) практически не отличается от этого аппарата в митозе. Специфика расхождения хромосом в мейозе — редукция их числа — определяется не молекулярной организацией веретена деления, а тем, как крепятся к нему хромосомы, спецификой их кинетохоров в мейозе и специфическим попарным соединением хромосом внутри клеточного веретена. Эти явления будут описаны в том хронологическом порядке, как они идут в ходе мейоза.

Как известно, мейоз состоит из двух клеточных делений (1-е и 2-е деления мейоза или мейоз I и мейоз II), следующих одно за другим без типичной интерфазы между ними, без репликации хромосом. Вместо классической интерфазы имеет место ее редуцированный вариант — интеркинез, то есть промежуток между двумя кинетическими фазами мейоза. Во время интеркинеза хромосомы частично деконденсируются и вскоре конденсируются вновь, и начинается профазы II.

Хромосомы в премейотической интерфазе и профазе I

Премейотическая интерфаза. Перед вступлением в мейоз хромосомы реплицируются в ходе премейотической интерфазы. Продолжительность этой интерфазы существенно превышает длительность интерфазы во время митотического цикла у тех же организмов, в частности, во время предшествующих мейозу делений (митозов) в сперматогониях и оогониях у животных, и в спорогенных (премейотических) клетках растений (Ляпунова, Богданов, 1975). Длительность премейотической интерфазы существенно увеличивается за счет периода реплика-

ции хромосом (S-периода), Это вызвано тем, что функционирует меньшее число точек инициации репликации, размер репликаонов увеличивается и для полной репликации хромосом требуется большее время (Liarunova, 1996).

В интерфазе любого клеточного деления, в том числе в премейотической интерфазе, пары гомологичных хромосом занимают в объеме ядра общую территорию. Это благоприятно для их сближения и конъюгации даже в соматических клетках (Zickler, 2006). После репликации ДНК каждая хромосома состоит из двух сестринских хроматид, содержащих по одной (сестринской) молекуле ДНК. В ходе профазы I мейоза взаимодействуют, в частности вступают в кроссинговер, по одной хроматиде из каждой гомологичной хромосомы.

Профаза I мейоза подразделяется на стадии на основе морфологических преобразований хромосом, которые можно наблюдать в световом микроскопе (рис. 1.1).

(1) Первая из этих стадий — *лептотена* (лептонема) начинается с появления тонких и длинных индивидуальных хромосом. У некоторых объектов они несут мельчайшие, изящные хромомеры (например, у насекомых: прямокрылых и стрекоз). Электронная микроскопия позволила выявить внутри лептотенных хромосом тонкие оси (axial cores), они же — осевые элементы хромосом (axial elements, AEs). В ранней лептотене осевые элементы могут быть прерывистыми, но к концу этой стадии они становятся непрерывными. По обе стороны от осевого элемента хромосомы уже на стадии лептотены располагаются сестринские хроматиды — элементарные фибриллы хроматина, уложенные в структуру высшего порядка.

Хромосомные оси (осевые элементы) мейотических хромосом состоят из белков когезинов, которые в цикле митоза соединяют параллельно лежащие сестринские хроматиды. Во время премейотической интерфазы и профазы I к ним добавляются мейоз-специфичные когезины — Rec8 и другие (см. гл. 2), а по ходу ранней профазы I к когезинам добавляются мажорные (главные) мейоз-специфические белки хромосом, из которых формируются латеральные элементы синаптонемных комплексов (рис. 1.2, см. также гл. 2). Вследствие массивного насыщения белками, хромосомные оси в профазе I мейоза становятся видимыми в интактных хромосомах с помощью электронного микроскопа, например, на ультратонких срезах при шадящих методах фиксации (обзоры: Богданов, 1975, 2003; Босток, и Саммнер, 1981; Zickler, Kleckner, 1998; Пенкина и др., 2002)

В ранней лептотене, под действием специфических для мейоза эндонуклеаз (главным образом Spo11), возникают множественные двухнитевые разрывы молекул ДНК (double-strand breaks, DSBs). Одновременно происходит взаимное узнавание отдельных локусов гомологичных хромосом и их попарное соединение (pairing). Формирование DSBs — это первый шаг многоэтапного процесса генетической рекомбинации, которая завершается лишь к концу стадии пахитены.

Во время лептотены окончательно исчезает расположение хромосом в ядре, характерное для соматических клеток, возникает их новое расположение, характерное для мейоза. После митоза в соматических клетках, в том числе после митозов в премейотических клетках (например, в сперматогониях у животных и архес-

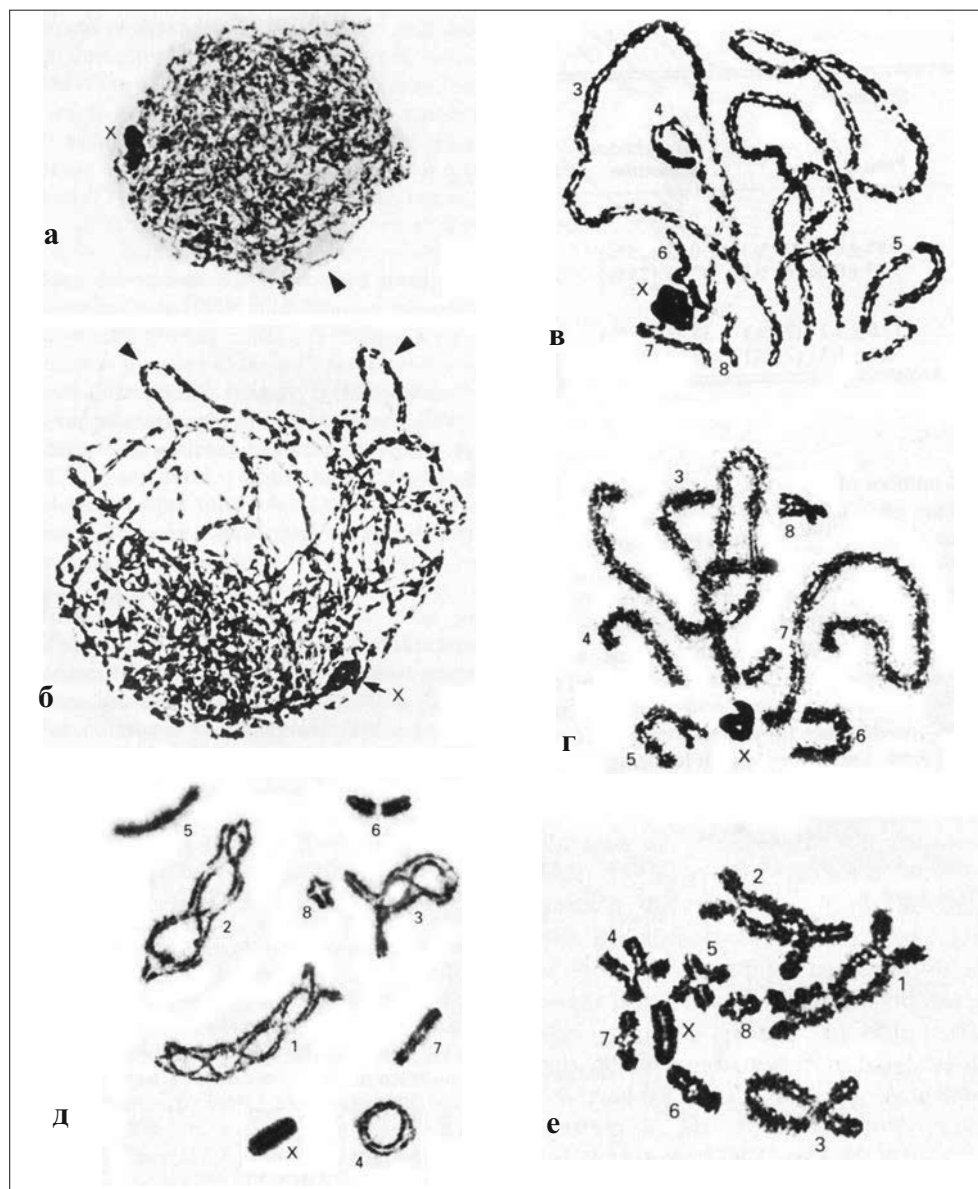


Рис. 1.1. Профаза I мейоза в сперматоцитах кузнечика *Chorthippus parallelus*, там где это возможно, биваленты хромосом пронумерованы в зависимости от их длины, X — унивалентная половая хромосома (X0-система определения пола): **а** — лептотена; **б** — зиготена, кластерирование теломерных районов хромосом на ядерной мембране, начало формирования фигуры «букета»; **в** — ранняя пахитена, «букет» хромосом; **г** — поздняя пахитена распад букета; **д** — диплотена, видны хиазмы (5 хиазм в биваленте № 1, четыре в биваленте № 2, три в биваленте № 3, две в биваленте № 4, по одной концевой хиазме в бивалентах №№ 5–8); **е** — диакинез (по John, 1990 с изменениями).

порядка клетках у растений), наблюдается эффект (фигура) Рабля — кластрирование центромерных районов хромосом вблизи полюса клеточного деления. При этом нередко на противоположной стороне ядра наблюдаются лопасти ядерной мембраны, в которых располагаются концы хромосом, т.е. ядерная мембрана как бы обтекает торчащие концы хромосом. Начиная с премейотической интерфазы и на протяжении лептотены, фигура Рабля постепенно сменяется кластрированием теломер хромосом на внутренней поверхности ядерной мембраны. Возникает фигура «букета» длинных слабо конденсированных хромосом, характерная для ранней профазы мейоза I (рис. 1.1). Сроки формирования и завершение существования «букета» варьируют у разных организмов (Mikhailova et al., 2001).

Пространственная организация хромосом в виде «букета» способствует сближению гомологичных хромосом с дальних расстояний до расстояний порядка 300–400 нм. Внутри букета гомологичные хромосомы, фиксированные обоими концами на ядерной мембране, выстраиваются параллельно и выравниваются (alignment). Между гомологичными хромосомами возникают контакты с помощью нитей хроматина. Они видны под электронным микроскопом как межхромосомные хроматиновые волокна (мостики), имеющие протяженность около 400 нм (Albini, Jones, 1987; Tesse et al., 2003). Эти мостики, которые, вероятно, содержат сайты свежесоздавшихся DSBs, многочисленны (Franklin et al., 1999; Tarsounas et al., 1999; Hunter, 2003). Малая часть лептотенных контактов превращается в контакты, названные ассоциациями осевых элементов (АОЭ) (Rockmill et al., 1995; Kleckner, 2006).

Стадия зиготены. АОЭ (см. выше) превращаются в точки инициации формирования синаптонемных комплексов (СК). Осевые элементы гомологичных хромосом, соединившись попарно, превращаются в два латеральных элемента СК (рис. 1.2 и 1.4). Именно в это время в состав осевых элементов инкорпорируются мажорные белки латеральных элементов СК: белки Hop1 и Red1 у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, SCP2, SCP3 — у млекопитающих и Lim15 — у высших растений (см. гл. 2).

У растений СК формируется полилокально, при этом локусы инициации формирования СК более густо сгруппированы в субтеломерных районах хромосом. У многих видов животных формирование СК происходит однонаправлено в каждом хромосомном плече: от теломеры к центромере.

Формирование СК идет «рука об руку» с процессингом DSBs (в частности с формированием структур Холлидея (рис. 1.3, см. также гл. 2) в котором участвуют RecA-подобные белки-ферменты Rad51 и Dmc1 (эпистатическая группа генов *RAD52* у *S. cerevisiae*). Эти белки локализуются в специальных компартментах СК, так называемых ранних мейотических узелках. Если функция этих ферментов нарушена (например, вследствие мутации), то элонгация СК у *S. cerevisiae* останавливается. Молекулярные события мейотической рекомбинации происходят по схеме описанной Шостаком и др. (Szostack et al., 1983), именуемой «моделью репарации двойных разрывов ДНК» (DSBR-model, см. ниже). Однако в последние

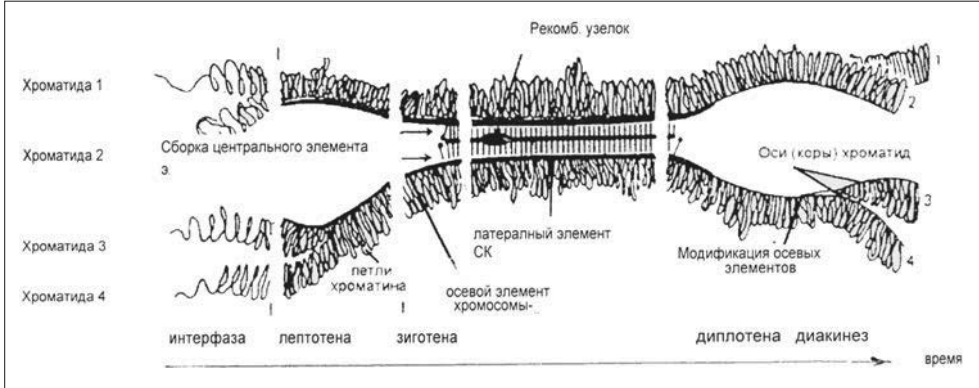


Рис. 1.2. Схема этапов формирования и распада СК.

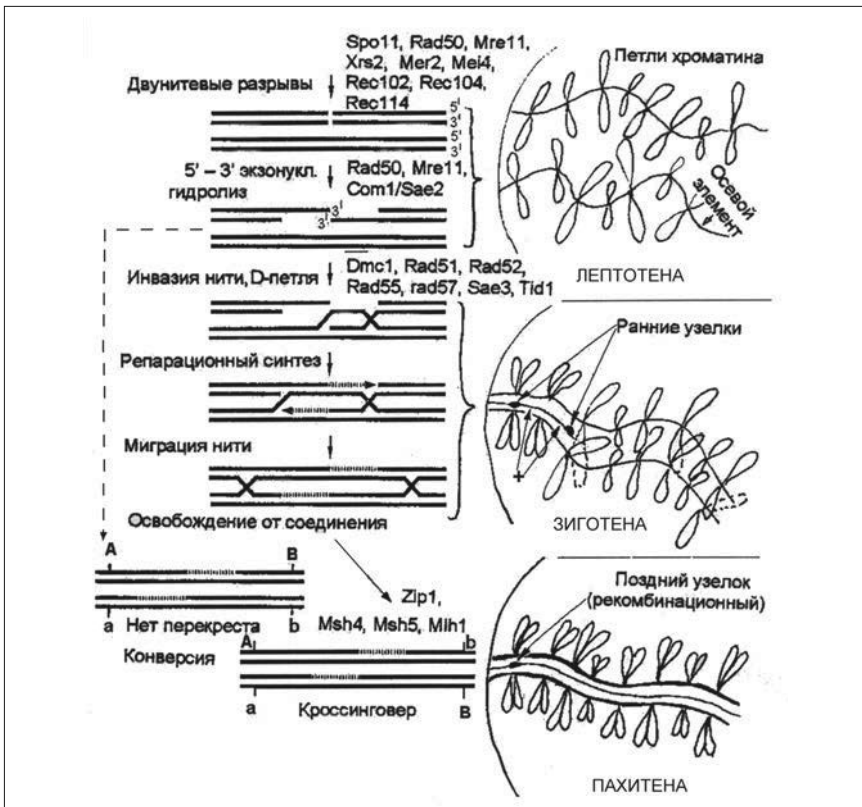


Рис. 1.3. Схема, сопоставляющая этапы рекомбинации молекул ДНК с этапами формирования и функционирования синаптомемных комплексов. Указаны символы белков-промоторов и ферментов рекомбинации, стадии профазы I мейоза и морфологические структуры хромосом и синаптомемного комплекса. Знаком «+» указан формирующийся центральный элемент синаптомемного комплекса. ЯМ — ядерная мембрана.

годы в схему внесены поправки (Page, Hawley 2004; Kleckner, 2006 и др.). В частности установлено важное обстоятельство: метаболические пути кроссинговера и конверсии расходятся сразу после начала процессинга DSBs на стадии лептотены (рис 1.3), а не при освобождении хромосом от двойных структур Холлидея в ходе пахитены, как считалось до 2002 г. (см. также гл. 2, рис. 2.2).

На рис. 1.3 схематически сопоставлены во времени события, происходящие с рекомбинирующими молекулами ДНК, и цитологические явления, происходящие с хромосомами, т.е. их сближение, инициация синапсиса и построение СК. Эти явления видимы под световым или электронным микроскопами.

(6) Стадия *пахитены* начинается с того момента, как СК построен по всей длине всех бивалентов. Как известно пахитена это стадия «толстых нитей», когда гомологичные хромосомы достигли полного синапсиса — тесного взаимного прилегания по всей их длине и под микроскопом видны биваленты хромосом. Бивалент состоит из двух пар сестринских хроматид (то, что называлось тетрадой хроматид очень старых авторов начала XX в.). Сестринские хроматиды (хроматиды одной хромосомы) соединены попарно по всей их длине с помощью осевых элементов, которые, включившись в состав СК, начинают называться — латеральными

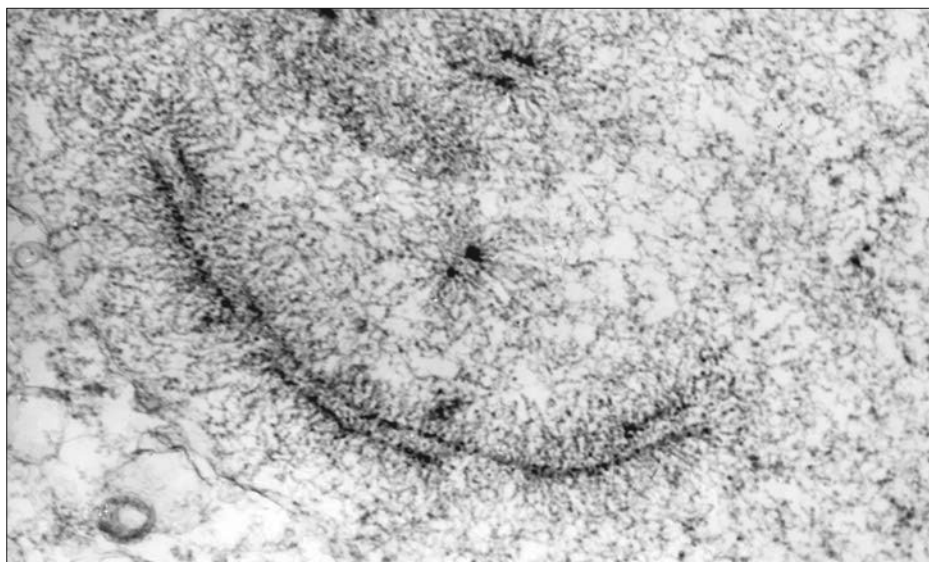


Рис. 1.4. Ультратонкий срез синаптонемных комплексов в сперматоците мыши. Видны длинный продольный срез СК и прикрепление нитей (петель) хроматина к его латеральным элементам. Над продольным срезом СК видны еще два среза СК: поперечный срез СК с петлями хроматина, радиально отходящими от сечений его латеральных элементов, и, над ним, косо-поперечный срез, с ещё более выраженными латеральными петлями хроматина. Центральные элементы видны плохо. Латеральные элементы продольно срезанного СК делают «твисты» и в некоторых местах поочередно не попадают в плоскость среза; ЯМ — обрывки ядерной мембраны. Масштабная линейка — 1 мкм

ми элементами СК. Два латеральных элемента соединены в конструкцию СК с помощью поперечных филаментов — белковых мостиков (рис. 1.2 и 1.4). У большинства организмов в пространстве между латеральными элементами (центральное пространство СК) под электронным микроскопом виден продольный центральный элемент. Он параллелен латеральным элементам и поэтому первоначально вся структура СК сравнивалась с трехполосной (трехчленной) лентой (см. Moses, 1968; Богданов, 1975).

Во время стадии пахитены происходят заключительные события рекомбинации — реализация рекомбинантных событий в виде кроссинговера или конвер-

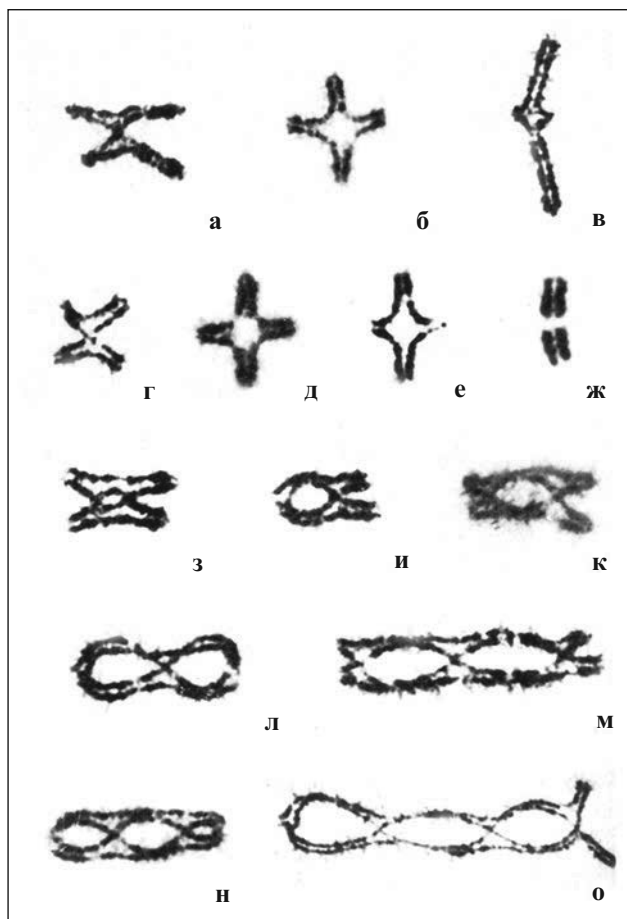


Рис. 1.5. Хиазмы в диплотенных бивалентах у *Chorthippus parallelus*. Видны одна (а–е), две (з–к), три (л, м) и четыре (н, о) хиазмы. На рис. ж сфотографирован бивалент, у которого гомологи уже разошлись после соединения концами без видимой хиазмы. Этот бивалент хромосомы 6. Он соответствует биваленту 6 на рис 1.1. О таких исключительных случаях см. гл. 3 (по: John, 1990).

сии генов. Эти события контролируются специальной группой генов. Продукты этих генов образуют комплекс белков, катализирующих заключительные этапы рекомбинации. Этот комплекс белков локализуется в так называемых поздних рекомбинационных узелках, которые видны в центральном пространстве СК как округлые или эллипсоидные структуры (см. ниже).

(7) На стадии *диплотены* СК поэтапно разрушается, исчезает контакт гомологичных хромосом во всех локусах, кроме тех локусов, где произошел кроссинговер и сформировались хиазмы — физические перекресты несестринских хроматид, и хиазмы становятся видимыми в микроскоп (рис. 1.1 и 1.5).

Подготовка к построению бивалентов хромосомом на экваторе веретена клеточного деления носит название стадии *диакинеза*. Во время диакинеза хромосомы претерпевают максимальную конденсацию, оставаясь соединенными попарно посредством хиазм в составе бивалентов. Когда начинается присоединение хромосомных нитей веретена к кинетохорам хромосом, и хромосомы начинают движение для построения на экваторе веретена (эту субстадию иногда называют прометафазой I), хромосомы оказываются несколько менее конденсированными, чем во время собственно диакинеза.

Резюмируя это краткое описание основных превращений хромосом в профазе I мейоза, необходимо подчеркнуть два принципиальных обстоятельства.

1. Инициация синапсиса гомологов (построение СК) и начальные этапы рекомбинации тесно связаны в пространстве и во времени и остановка одного из этих процессов приводит к остановке другого и наоборот.

2. Хиазмы являются следствием кроссинговера и представляют собой те локусы хромосом, где произошел кроссоверный обмен. Этот обмен обязательно стабилизируется белками когезинами. Об этих белках будет сказано в следующем разделе и в гл.2.

Метафаза I и анафаза I. Их отличие от метафазы и анафазы митоза

Как известно, в митозе на экваторе веретена клеточного деления выстраиваются хромосомы, состоящие из двух сестринских хроматид (СХ). Их удерживают на экваторе веретена две силы: сила натяжения хромосомных нитей веретена, тянущих СХ к полюсам, и сцепление (когезия) СХ в области центромеры. Кинетохор во время метафазы уже удвоен, но когезины продолжают «склеивать» два сестринских центромерных района, а когда белок когезин гидролизуются, сцепление СХ исчезает, и микротрубочки веретена делают свою работу, разводя СХ к полюсам (рис. 1.6, а)

В метафазе I-го деления мейоза (мейоз I) когезия СХ тоже существует и даже усиливается за счет мейоз-специфичных когезинов (см. гл. 2). Но есть еще два фактора, формирующие специфику метафазы мейоза I. Это (1) хиазмы, которые соединяют гомологичные хромосомы попарно в виде бивалентов и (2) униполярность кинетохоров, обусловленная тем, что в мейозе I не происходит гидролиза

когезинов соединяющих центромерные районы сестринских хроматид. Когезины защищены от гидролиза специфическим для мейоза I белком шугошином и СХ остаются соединенными в центромерных районах.

Таким образом, во время метафазы I гомологичные хромосомы, соединенные хиазмами, ориентируются по отношению к обоим полюсам (коориентируются) на экваторе веретена клеточного деления, и в анафазе I могут разойтись к полюсам только гомологичные хромосомы, состоящие каждая из двух СХ (рис. 1.6, б).

Как следует из предыдущего раздела, кроссинговер — причина и предшественник хиазм — совершается в профазе I мейоза, но его решающие для мейоза по-

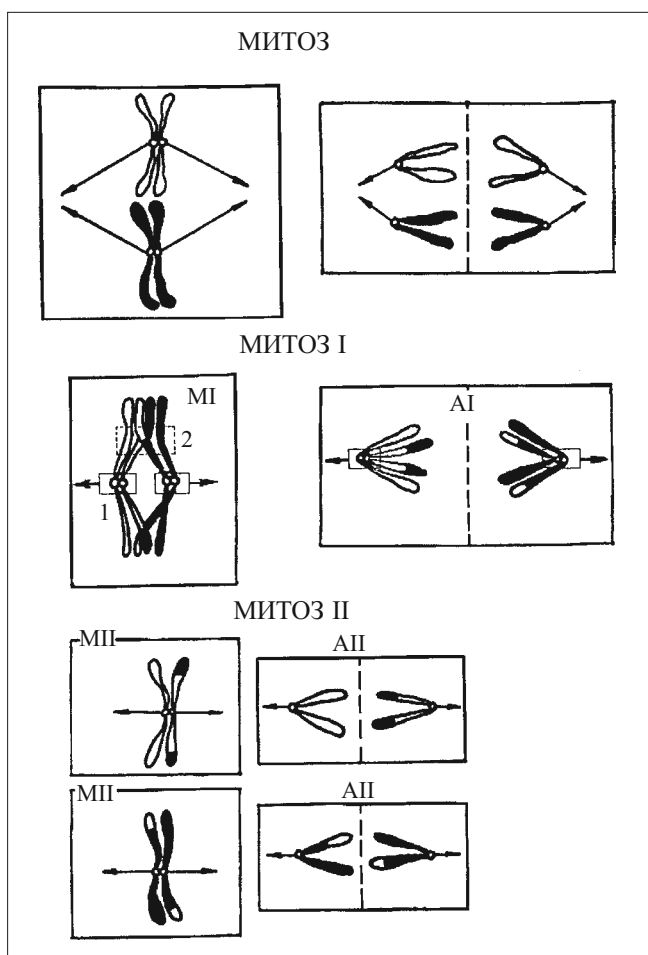


Рис. 1.6. Схемы поведения хромосом во время кинетических фаз митоза и мейоза. Рамкой 1 очерчена зона центромерного района хромосомы, в котором гидролиз когезина, скрепляющего сестринские хроматиды, заблокирован до начала анафазы II из-за присутствия мейоз-специфического белка шугошина (Sgo1). В мейозе II шугошин не активен и центромеры расходятся. Рамкой 2 очерчена зона хиазмы. Остальные обозначения — в тексте.

следствия проявляются в метафазе I и анафазе I. По одной хроматиде из каждой хромосомы претерпевают в результате кроссинговера обмен сегментами. Эти сегменты (черный и белый на рис. 1.6, б), вследствие кроссинговера, оказываются линейно связанными уже не со своими, а с несестринскими центромерами (и кинетохорами), но латерально остаются «склееными» с помощью когезинов со своими СХ. Хиазмой является именно эта «конструкция», состоящая из двух кроссоверных несестринских хроматид, каждая, из которых остаётся соединена бок-о бок со своей сестринской хроматидой (обведено рамкой 2 на рис. 1.6, б). В метафазе I хиазмы противостоят тянущим силам веретена и вынуждают биваленты оставаться на экваторе веретена до тех пор, пока не исчезнет мейоз-специфичный когезин, скрепляющий хроматиды в районе хиазмы. Процесс протеолитического гидролиза белков-когезинов, скрепляющих хроматиды, и генного контроля этого явления в ходе мейоза детально исследован на примере *S.cerevisiae* (Uhlmann et al., 1999; Vuonomo et al., 2000) и других организмов (см. гл. 2).

Попарное построение гомологичных хромосом на экваторе веретена и все, что сказано выше о хиазмах и кинетохоре, приводит к тому, что в анафазе мейоза I могут разойтись только гомологичные хромосомы (рис. 1.6, б).

«Склеенное» состояние (нерасщепление) сестринских центромерных районов у *S.cerevisiae* обусловлено тем, что ген *CDC31*, продукт, которого нужен для гидролиза когезинов в митозе, в мейозе I оказывается временно репрессирован продуктом другого специфического гена мейоза — гена *SGO1*. Во втором делении мейоза ген *SGO1* не функционирует, его белковый продукт — белок шугошин — оказывается израсходованным, «запрет» на действие гена *CDC31* снимается и сестринские хроматиды получают возможность разойтись к полюсам, как в митозе (Murray, Szostack, 1985 и др.). У *D. melanogaster* в метафазе мейоза I такую же репрессировающую функцию по отношению к центромерам выполняет ген *mei-S332* (Kerrebrock et al., 1992; Page, Hawley, 2003, 2004), а функцию специфической для мейоза когезии сестринских хроматид выполняет белковый продукт гена *Ord.* (Bickel et al., 1997). Ген *SGO1* дрожжей не имеет структурной гомологии с геном *mei-S332* дрозофила и вообще ни с одним из генов дрозофила. Таким образом, мы встречаемся с гомологией фенотипа (гомологичной функцией) специфических генов мейоза (*SGO1* и *mei-S332*) у чрезвычайно далеких групп организмов — сумчатых грибов (дрожжи) и насекомых (дрозофила). Это чрезвычайно важный пример конвергенции фундаментальной клеточной функции на основе разных по первичной структуре белков, имеющих одинаковую внутриклеточную функцию (Богданов, 2004).

Во время анафазы I расходятся гомологичные хромосомы, а полная сегрегация рекомбинировавших (рецессивных и доминантных) аллелей совершается только в анафазе II, когда расходятся сестринские хроматиды. На рис. 1.6, б показано, что если в хромосомном плече произошел только один кроссинговер, то сегменты сестринских хроматид, расположенные дистальнее точки кроссоверного обмена содержат разные аллели рекомбинировавших генов.

Резюмировать различия поведения хромосом в мейозе и митозе можно так. В мейозе происходят генетически управляемые и новые по сравнению с митозом явления: 1) Гомологичные хромосомы на продолжительное время соединяются парно с помощью синаптонемных комплексов, и между гомологами происходит кроссинговер. Кроссинговер приводит к формированию локальной физической связи хромосом — хиазмы (связывающей несестринские хроматиды). 2) Благодаря хиазмам, хромосомы выстраиваются на экваторе веретена мейоза I в виде пар — бивалентов. 3) Сестринские хроматиды каждой хромосомы остаются скрепленными в области центромеры и их кинетохоры приобретают униполярность (связь только с одним полюсом веретена деления) во время метафазы I. 4) В результате, в анафазе мейоза I к полюсам клеточного деления расходятся не сестринские хроматиды (как в митозе) а гомологичные хромосомы, каждая из которых содержит две сестринские хроматиды. Происходит редукция числа хромосом.

Поскольку сестринские хроматиды в профазе I мейоза претерпели кроссинговер, то весьма общее утверждение о двух сестринских хроматидах, отходящих к одному полюсу, надо уточнить. Каждая из двух гомологичных хромосом, идущая к полюсу в анафазе I, обязательно несет центромерные районы двух сестринских хроматид и обязательно содержит хотя бы по одному кроссоверному обмену, то есть сегмент несестринской хроматиды (черные и белые сегменты на рис 1.6, б). Главное условие правильной редукции числа хромосом состоит в том, что во время метафазы I гомологичные хромосомы должны соединяться хотя бы одной хиазмой.

Сравнение линейных параметров хромосом в митозе и мейозе

Итак, организация мейотических и митотических хромосом различается настолько, насколько это нужно для обеспечения временной ассоциации (синапсиса и кроссинговера) гомологов и их сегрегации — разъединения и расхождения в дочерние клетки в мейозе I.

Помимо особенностей структуры, обеспечивающих указанные выше явления, бросаются в глаза различия линейных размеров и степени конденсации хромосом в митозе и мейозе. Максимальная длина мейотических хромосом (в лептотене) «задается» длиной осевых элементов хромосом (которых нет в профазе митоза). Осевые элементы не дают хромосоме укоротиться. Возможно, именно поэтому лептотенные хромосомы длиннее, чем хромосомы в ранней профазе митоза. В метафазе I мейоза хромосомы, напротив, гораздо короче, чем в метафазе митоза. Так, например, согласно данным Сакса и Сакс (Sax, Sax, 1935; цит. по: Swanson, 1960), средняя длина хромосом в профазе I мейоза у *Lilium regale* составляет 83 мкм, а в профазе митоза только 35 мкм. Во время метафазы имеет место иное соотношение — в метафазе I мейоза средняя длина хромосом составляет 12 мкм, а в метафазе митоза 22 мкм. Таким образом, необходимо понять, почему диапазон изменения длины хромосом от ранней профазы I до метафазы I в мейозе (а именно укорочение хромосом от 83 до 12 мкм) в несколько раз больше, чем в митозе

(где укорочение происходит всего от 35 до 22 мкм). Что лежит в основе этого явления, пока неясно. В последнее время внимание клеточных биологов, исследующих мейоз, приковано к конденсидам — белкам, ответственным за упаковку элементарных хромосомных нитей в «тело» конденсированной хромосомы при клеточном делении. Уже установлено, что в ходе мейоза появляются тканеспецифичные конденсины — продукты специфических генов мейоза (обзоры Vaarends, Grootegoed, 2003; Page, Hawley, 2004)

Более широкий, чем в митозе диапазон конденсации (и изменения от максимальной длины в профазе I до минимальной в метафазе I) описан для нескольких видов растений и животных (Swanson, 1960; Zickler, Kleckner, 1998, 1999) и может считаться универсальным правилом. Количественным критерием компактизации хромосом может служить сравнение их длины с длиной ДНК в геноме.

Результаты такого сравнения приведены в табл. 1.1. Указаны длина геномной ДНК и фактор компактизации ДНК в пахитенных бивалентах (измеренных на основе длины СК). Эти показатели сравниваются с длиной и фактором компактизации ДНК в метафазных хромосомах соматических клеток. Видно, что пахитенные биваленты в 1,5 раза длиннее метафазных хромосом. Это сравнение дает и другую информацию. Оказывается, что при увеличении размера генома (линейной длины молекул ДНК) на два порядка величин (от $2,8 \times 10^3$ мкм у дрожжей до $1,7 \times 10^5$ мкм у шелкопряда) фактор компактизации ДНК в пахитенных хромосомах увеличивается в 8 раз, а при дальнейшем увеличении длины генома только в 10 раз (до $1,9 \times 10^6$ мкм у саранчи) происходит скачкообразное увеличение степени компактизации ДНК снова в 7–8 раз. Дальнейшее увеличение длины ДНК в геноме до $1,6\text{--}10^7$ мкм не вызывает изменения степени компактизации ДНК в пахитенных бивалентах. Несмотря на ограниченное число данных в таблице, можно предполагать, что при длине генома порядка 10^6 мкм появляется новый уровень организации (компактизации) ДНК в хромосомах. После составления таблицы появились дополнительные данные. Они собраны в аналогичной, но более сложной таблице (Kleckner, 2006, Appendix). Эти данные не изменяют картину и лишь насыщают ее новыми фактами.

Длина СК задается длиной его латеральных элементов. Зиклер и Клекнер анализировали данные о длине хромосомных осей (латеральных элементов СК) и размере латеральных петель хроматина на препаратах распластанных пахитенных ядер и сравнили их с размерами геномов у разных организмов (Zickler, Kleckner, 1999; Kleckner, 2006). Они пришли к выводу, что плотность расположения латеральных петель вдоль хромосомных осей примерно одинакова у разных организмов и варьирует вокруг цифры 20 петель на 1 микрон длины оси. Клекнер предполагает существование некоего базисного модуля в структуре хромосомы: АТ-богатые треки ДНК-гистоновой нити крепятся к белкам когезинового комплекса (стержня хромосомных осей и латеральных элементов СК), а протяженные районы ДНК между этими треками образуют латеральную петлю (рис. 1.7). Независимо от того, существуют эти модули или нет, размеры и плот-

Таблица 1.1.

Сравнение суммарной длины хромосом в метафазе соматических клеток, а также суммарной длины пахитенных хромосом, измеренной по длине спнаптонемных комплексов, с суммарной длиной молекул ДНК в геноме (гаплоидные наборы).

Объект	Суммарная длина молекул ДНК в геноме, мкм (А)	Длина хромосом, мкм (В)	Длина хромосом в % от длины ДНК	Фактор компактизации (А/В)	Авторы (а)
Метафаза митоза					
<i>Homo sapiens</i>	$0,9 \times 10^6$	128	0.014	8000	1. Huberman, Rigs, 1966 2. Bak, Zeuthen, 1977
Хомячок <i>Cricetulus griseus</i>	$1,1 \times 10^6$	90	0.009	12000	1. Huberman, Rigs, 1966 2. Они же
Пахитена мейоза					
Дрожжи <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$2,8 \times 10^3$	28	(?) 1	100	1. Byers, Goetsch, 1975 2. Они же
Нейроспора <i>Neurospora crassa</i>	$1,6 \times 10^4$	50	0.3	330	1. Gillies, 1972 2. Он же
<i>Drosophila melanogaster</i>	$5,4 \times 10^4$	100	0.2	540	1. Laird, 1973 2. Carpenter, 1975b
Аскарида <i>Ascaris suum</i>	(?) 9×10^4	137	0.15	660	1. Moritz, Roth, 1976 2. Goldstein, Moens, 1976
Шелкопряд <i>Bombyx mori</i>	$1,7 \times 10^5$	212	0.12	800	1. Rasmussen, 1976 2. Он же
Кукуруза <i>Zea mays</i>	$2,6 \times 10^5$	353	0.13	740	1. Gillies, 1973 2. Он же
Саранча <i>Locusta migratoria</i>	$1,9 \times 10^6$	314	0.017	6000	1. Buss, Henderson, 1971 2. Moens, 1973
Хомячок <i>Cricetulus griseus</i>	$1,1 \cdot 10^6$	130	0.013	7700	1. Huberman, Rigs, 1966 2. Moses et al., 1977
<i>Homo sapiens</i>	$0,9 \times 10^6$	198	0.022	4500	1. Heller, Clermon, 1963 2. Moses et al., 1977
Лилия (б) <i>Lilium longiflorum</i>	$1,6 \times 10^7$	3700	0.023	4300	1. Taylor, McMaster, 1954 2. Holm, 1977

а — авторы работ, в которых измерены длина ДНК (1) и длина хромосом (2).

б — длина СК лилии указана для стадии зиготены.

ность расположения петель хроматина (можно читать — модулей) в хромосоме (и особенно в пахитенных хромосомах, тесно ассоциированных с помощью СК) — эволюционно консервативны. Следствие этой закономерности можно обнаружить в том, что у организмов с разными размерами геномов наблюдаются одинаковые механизмы мейоза (оказывается одинаковой схема синапсиса и «конструкция» СК). Это, назовем его, приспособление к оптимальной для мейоза конструкции хромосом, достигается путем изменения размера петель, а не путем изменений самого принципа организации хромосом. Этот принцип — консервативен: петли хроматина, прикреплены к хромосомной оси и расположены вдоль этой оси с постоянной плотностью.

Интересно отметить, что длина хромосомных осей (длина СК) может существенно меняться в пределах одного биологического вида, несмотря на то, что количество ДНК в геноме — постоянно. В частности есть различия в длине СК между мужским и женским полом у человека (обзор: Kleckner et al., 2003). Если плотность расположения петель хроматина вдоль СК всегда постоянна, то различия в длине СК должны сопровождаться изменением длины петель. Это предсказание оправдывается. У женщин СК в два раза длиннее, чем у мужчин, а длина петель хроматина — в два раза короче (Tease, Hulten, 2004). С предсказанием совпадает и другой факт: у мутантных мышей, лишенных ключевого белка осевых элементов SMC-beta (см. гл. 2), длина СК в два раза меньше, а размер петель в два раза больше, чем у мышей дикого типа (Revenkova et al., 2006).

Гены, управляющие мейозом

Схема мейоза у животных, грибов и растений весьма консервативна, хотя некоторые её детали варьируют. Чем обеспечивается этот консерватизм? В предыдущих разделах мы уже упомянули факт принципиальной важности для ответа на этот вопрос: мейоз управляется специфическими генами. Если схема мейоза эволюционно консервативна, то напрашивается предположение о консервативности хотя бы ключевых генов, специфичных для этого процесса, т.е. отличающих мейоз от митоза. В начале XXI в., после того как были секвенированы геномы модельных объектов, используемых для изучения генного контроля мейоза: *S.cerevisiae*, затем *D.melanogaster*, *C.elegans* и, наконец, человека, появились факты, позволяющие рассматривать этот вопрос (Богданов, 2003, 2004; Bogdanov et al., 2006).

Существуют мутации, изменяющие ход мейоза. Среди них есть мутации специфических генов мейоза. У модельных организмов — почкующихся дрожжей и дрозофилы — известны многие десятки таких генов. Судя по наиболее изученному модельному организму — дрожжам *Saccharomyces cerevisiae*, — мейоз у всех организмов должен управляться сотнями генов. Среди них есть гены, общие для мейоза и митоза (общие гены клеточного деления), и гены, специфические для каждого из этих процессов (Богданов, 2003). Представление о числе уже выявленных специфических генов мейоза у разных организмов дает табл. 1.2. Малое число генов мейоза, выявленных у кукурузы и других растений по сравнению с дрож-

Таблица 1.2.

Число выявленных специфических генов мейоза у разных организмов (по: Богданов, 2004 с изменениями).

Объект	Число известных генов мейоза		Источник
	всего	изученных на молекулярном уровне	
Дрожжи <i>Sacharomyces cerevisiae</i>	~360	~300	Priming et al., 2000
Плодовая мушка <i>Drosophila melanogaster</i>	~320	~120	Гришаева, Богданов, 2000; Manheim, McKim, 2003
Кукуруза <i>Zea mays</i>	~50	7	Golubovskaya et al., 2002; Pawlovsky et al., 2004
Рожь <i>Secale cereale</i>	21	-	Sosnikhina et al., 2005
Рязунка <i>Arabidopsis thaliana</i>	~20	~10-12	Jones et al., 2003; Schwarzacher, 2003

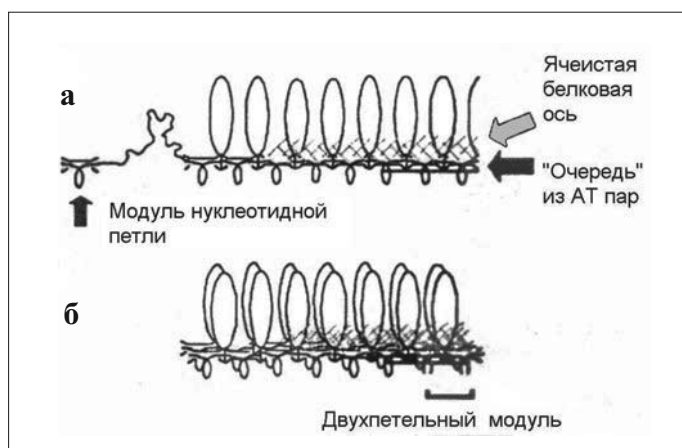


Рис. 1.7. Модель сборки и организации петель хроматина в виде линейного чередования «модулей» (а), на которых строится ячеистая белковая сеть – осевой элемент хроматиды в мейотической хромосоме и структура одинаково ориентированных петель двух сестринских хроматид (б), у которых «модули» соединяются попарно на основе гомологии (по Kleckner, 2006).

жами и дрозофилой, означает лишь, что степень изученности у генома растений существенно ниже, чем у дрожжей и дрозофилы.

Среди мутаций мейотических генов наблюдаются фенотипически одинаковые у разных организмов. Накопленный в литературе материал о морфологических изменениях в картине мейоза, вызванных мутациями этих генов, позволяет говорить о гомологических рядах изменчивости признаков мейоза в широком диапа-

зоне таксонов (вплоть до царств) и в том смысле, который придавал этому понятию Н.И. Вавилов (Вавилов 1987), подробнее этот вопрос обсуждается в специальных статьях Богдановым (2003, 2004). Возможно, более правильно говорить о гомоморфности таких признаков (Богданов 2004; Bogdanov et al., 2006), ибо, как установлено в отношении генов, кодирующих белки СК, и некоторых других генов мейоза (см. гл. 2), они негомологичны у грибов и млекопитающих, хотя их продукты — структурные белки СК и хромосом — выполняют одинаковые функции. Гомология генов считается существенной, когда последовательность пар нуклеотидов совпадает не менее чем на 80% (Rubin et al., 2000). Такая гомология характерна для генов, кодирующих ферменты, т.е. метаболизм мейотических клеток, и прослеживается, как правило, в пределах таксономического класса, но ее нет у генов структурных белков СК (Heyting, 1996; Богданов и др., 2002б; Higgins et al., 2005). Мы вернемся к этому вопросу в следующей главе.

Заключение. Общие закономерности организации мейотических хромосом

Существуют весьма обоснованные модели организации хромосом в митозе и мейозе (Stack, Anderson, 2001; Kleckner, 2006). Эти модели констатируют, что при митозе и мейозе есть общий принцип аранжировки фибриллы хроматина в «теле» хромосомы. Этот принцип — петельная организация. Весьма вероятно, что в цикле митоза и мейоза (Zickler, Kleckner, 1999; Kleckner, 2006) петли хроматина крепятся к когезиновым белкам, которые пунктирной (в митозе) или сплошной (в мейозе) осью проходят вдоль всей хромосомы. При этом петли, принадлежащие сестринским хроматидам, расположены супротивно. В профазе мейоза когезиновые оси становятся более массивными и морфологически выраженными вследствие присоединения к когезинам специфических белков мейоза — белков, формирующих оси лептотенной и зиготенной хромосомы и латеральные элементы СК. Эти белки описаны в следующей главе. На основе пока немногих, но тонких наблюдений ультраструктуры и иммуноцитохимической структуры латеральных элементов СК Клекнер (Kleckner, 2006) прогнозирует, что белки латеральных элементов организованы в виде сетчатых слоев, одевающих тонкую когезиновую ось. При этом в структуре как самих латеральных элементов, так и в пространстве между ними (в центральном пространстве СК) располагаются сегменты ДНК довольно большой протяженности. Это соответствует данным полученным в нашей лаборатории, а именно, количество ДНК в препаративно изолированных СК мыши и золотистого хомячка достигает 0,5% от количества геномной ДНК (Карпова и др., 1995). При этом длина фрагментов ДНК, содержащихся во фракции изолированных СК, лежит в пределах 200–500 пар нуклеотидов. Такие сегменты непрерывной молекулы ДНК «продетой» как нитка сплошного шва вдоль латеральных элементов должны придавать белковым латеральным элементам определенную эластичность в силу эластических свойств двойной спирали ДНК. Эти факты и соображения объясняют реально существующую эластичность неспаренных лептотен-

ных и зиготенных осей хромосом (их клубки в лептотене и петли «букета» в зиготене) и латеральных элементов СК в пахитене. Известно, что длина осевых элементов от начала лептотены до завершения зиготены сильно сокращается (Zickler, Kleckner, 1998), а длина СК меняется на протяжении пахитены. В результате основания петель хроматина, крепящихся к осевым элементам сближаются и это способствует увеличению удельной массы осевых (латеральных) элементов и увеличению плотности хроматина по бокам (вокруг) осей. Стоит добавить, что СК (у разных организмов по-разному и на разных субстадиях пахитены) образуют «твисты» — повороты вокруг продольной оси.

Модель модульной организации осевых элементов хромосом в мейозе представлена на рис. 1.7. Смысл такой организации состоит в том, что она максимально выгодна для двух процессов: (1) попарного узнавания гомологичных локусов (пока трудно сказать за счет узнавания локусов, расположенных в латеральных петлях хромосом или локусов инвертированных на «внутреннюю» поверхность осевых элементов) и (2) построения сплошной оси, превращающейся в латеральный элемент СК. Важно что обе эти функции необходимы для создания на определенное время (на время стадии пахитены) стабильной «рамы» внутри которой может совершаться равный кроссинговер. Эта же рама служит каркасом, несущим комплексы белков — ферментов рекомбинации. Это так называемые рекомбинационные узелки крепящиеся к элементам СК, чаще всего — к поперечным филаментам СК.

Исходя из несколько других задач, чем Клекнер, а именно исследуя первичную структуру ДНК в «горячих» точках рекомбинации, Дадашев и др. (2005) пришли к построению модели организации хромосомы, которая весьма близка к модульной модели Клекнера (рис. 1.8).

Итак, создав для мейотической хромосомы белковые оси, природа создала механизм «застежки молнии», чем обеспечила условия для равного кроссинговера массивных эукариотических хромосом и их сегрегации после «расстегивания» этой «застежки».

В следующих главах содержится более подробное описание этих структур и процессов (гл. 2) и возможных путей их эволюции (гл. 3).

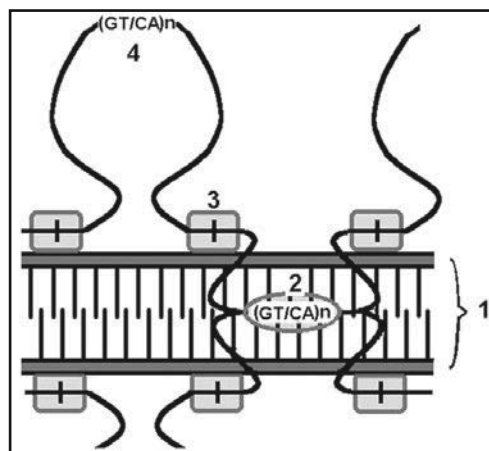


Рис. 1.8. Условное изображение модели организации синаптомемного комплекса (СК) и петель хроматина несестринских хроматид в пахитенном биваленте. 1 — СК; 2 — ранний рекомбинационный узелок в центральном пространстве СК; ДНК-белковый комплекс, состоящий из Alu-повторов и белков SMC и SCP2-SCP-3; повторы типа $(GT/CA)_n$ в латеральных петлях хроматина (по Дадашеву и др., 2005).

Глава 2.

СИНАПТОНЕМНЫЙ КОМПЛЕКС И ЕГО ФУНКЦИИ

Синаптонемный комплекс — это специфичная для мейоза субклеточная (субхромосомная) структура. На стадии пахитены мейоза СК соединяет параллельно расположенные в ядре гомологичные хромосомы. Существование СК — одно из необходимых условий для последующего формирования хиазм. Привычный для русской научной и учебной литературы термин «конъюгация» хромосом в международной литературе уже не используется. Он заменен термином «синапсис» (тесное соединение). Этот термин используется для описания латерального соединения хромосом с помощью СК. Используется также термин «спаривание» (pairing). В узком смысле «спаривание» употребляется для обозначения локального соединения хромосом в премейотической интерфазе и лептотене (см. гл. 1). Иногда термин «спаривание» используется в более широком смысле, а именно для обозначения попарного соединения гомологов и, в частности, для обозначения соединения гомологов в виде бивалентов на стадиях диакинеза и метафазы I.

СК был открыт в 50-е годы, которые можно назвать периодом великих открытий электронной микроскопии, и его роль в мейозе была подвергнута интенсивному исследованию (обзоры: Moses 1968, 1969; Богданов, 1971, 1975, 2003; von Wettstein et al., 1984; Heyting, 1996; Zickler, Kleckner, 1998, 1999; Page, Hawley, 2004). СК существует только в процессе мейоза и только короткое время в жизни мейотической клетки. Он начинает формироваться на стадии зиготены мейоза и постепенно разрушается на стадии диплотены после выполнения его функции (Holm, 1986; Fedotova et al., 1989; Коломиец и др., 2001).

Функции синаптонемного комплекса

Установилось мнение, что СК необходим для формирования хиазм. Веским обоснованием этого служит то, что СК не формируется у тех видов низших эукариот, например у *S. pombe* и *Aspergillus nidulans*, у которых нет хиазм (Roeder, 1997; Zickler, Kleckner, 1999). Другая функция СК — создание интерференции кроссинговера, то есть обеспечение закономерного ограничения в распределении событий кроссинговера, а именно, эти события могут происходить не ближе одно от другого, от третьего и т.д., чем на определенном расстоянии генетической и физической карты хромосом. Интерференции кроссинговера нет ни у *S. pombe*, ни у *A. nidulans*. Интерферен-

ция кроссинговера (но не сам кроссинговер) исчезает у мутантов *zip1 S. cerevisiae*, у которых нарушено формирование СК (Tung, Roeder, 1998). Интерференция кроссинговера и хиазм у мыши и кукурузы снижается и даже превращается в отрицательную интерференцию в ограниченной области бивалента, вблизи точки разрыва одного из гомологов, претерпевшего инверсию или транслокацию и именно там, где происходит вызванная перестройкой смена партнеров спаривания и смена латеральных элементов СК (Borodin et al., 1991; Auger, Sheridan, 2001).

Формальная причина, по которой СК определяет интерференцию кроссинговера, состоит в том, что он несет на себе (внутри себя) рекомбинационные узелки — субмикроскопические структуры, содержащие комплексы ферментов рекомбинации, и они по какой-то причине не могут располагаться вдоль СК ближе, чем расстояние интерференции. Подробнее об этом — в следующих разделах этой главы, хотя причина «интерференции» рекомбинационных узелков остается пока загадкой. Формирование и сохранение цитологически видимых хиазм до начала анафазы I мейоза и регуляцию распределения хиазм по хромосоме можно назвать генетической функцией СК. Для того, чтобы данная пара гомологичных хромосом правильно сегрегировала в мейозе I, необходимо, чтобы в ней сформировалась и сохранилась до начала анафазы I хотя бы одна хиазма. В противном случае с высокой вероятностью возникает анеуплоидия по данной хромосоме.

Помимо генетической функции, существует, очевидно, другая, структурная роль СК. Он участвует в организации профазной мейотической хромосомы. Осевые элементы хромосом и латеральные элементы СК на стадии пахитены служат идеальными осями (на стадиях лептотены и зиготены) и каркасом (на стадии пахитены) к которым крепятся петли хроматина. Поскольку СК располагается по оси пахитенного бивалента, возникает билатеральная организация бивалента гомологичных хромосом: петли хроматина располагаются по обе стороны СК. Такая организация пары хромосом — эффективное «изобретение» природы, позволившее точно сопоставлять основания петель хроматина (гомологичных хромомер) в трехмерном пространстве клеточного ядра. По-видимому, это простейший, если не единственный, способ внести порядок и точность в процесс полокусного взаимодействия (узнавания) гомологичных хромосом и обеспечить достаточную точность (гомологию) рекомбинации в мейозе. Такую роль СК в механизме взаимного «узнавания» гомологичных локусов, их синапсиса (тесного латерального контакта) и кроссинговера признают авторы всех современных моделей организации мейотической хромосомы (Stack, Anderson, 2000; Дадашев и др., 2005; Kleckner, 2006).

Помимо доказанной роли СК в обеспечении интерференции кроссинговера и несомненной его роли в той организации хромосом, о которой сказано выше, по-видимому, существует и третья, пока гипотетическая функция СК. Есть предположение, что СК нужен для того, чтобы гомологичные хромосомы при спаривании не соединялись бы необратимо, как в ядрах клеток слюнных желез у дрозофилы, но сохраняли возможность разойтись в анафазе I мейоза (Богданов, 1975; Bogdanov, 1977). Эта гипотеза не противоречит положению о роли СК в синапсисе, кроссин-

говере и формировании хиазм. Для проверки гипотезы необходим такой эксперимент, результаты которого или строго предсказанные следствия можно было бы проверить. На современном уровне знаний можно предположить, что в ходе эволюционного становления мейоза обратимость синапсиса могла быть первичной функцией СК, а его роль в кроссинговере и хиазмаообразовании стала следствием, но это нужно каким-то образом доказать. Более подробно проблема эволюции мейоза обсуждается в главе 3.

Способ формирования синаптонемных комплексов

СК формируется из белковых осей (axial cores) гомологичных хромосом (см. рис. 1.2.). Эти оси специфичны только для мейотических хромосом и только на стадии ранней профазы I мейоза (Богданов, 1975; von Wettstein et al., 1984; Heyting, 1996; Zickler, Kleckner, 1998; Revenkova, Jessberger, 2006). Вплоть до конца XX появлялись публикации и устные высказывания с сомнениями и даже с несогласием с таким утверждением (например: Серавин, Гудков, 1999). При этом ссылались на сообщение о том, что в унивалентных хромосомах в премейотических гаплоидных ядрах у грибов-зигомицетов уже наблюдаются осевые элементы хромосом, характерные для стадии лептотены мейоза, и иногда они формируют СК путем изгибов (складок) хромосом «на себя» (foldback) (Zickler, 1973). Однако такие сомнения легко рассеиваются, поскольку известно, что в гаплоидных премейотических ядрах сумчатых грибов уже начинает действовать генетическая программа мейоза (Roeder, 1997; Zickler, Kleckner, 1998; Zickler, 2006), а белки осевых элементов хромосом у дрожжей и млекопитающих начинают синтезироваться еще в премейотической интерфазе (Eijre et al., 2001; Revenkova, Jessberger, 2006).

Прежде, чем описывать процесс формирования осевых элементов мейотических хромосом из специфичных для мейоза белков и соединение их в СК (что будет сделано позже), сначала надо описать процессы, происходящие с молекулами ДНК — гомологичными хроматидами. Дело в том, что, по крайней мере у *S. cerevisiae*, сайты инициации кроссинговера служат сайтами инициации соединения осевых элементов хромосом в синаптонемный комплекс (сначала — инициация кроссинговера, потом инициация СК), но есть исключения у других организмов.

Инициация рекомбинации и ее взаимоотношение со спариванием хромосом и формированием СК

В гл. 1 сообщалось о том, что в цепи событий на молекулярном уровне во время профазы I первым принципиальным событием является генетически программированное образование разрывов двойной спирали ДНК (double strand breaks, сокращенно — DSB). Судя по всему, существуют DSB-зависимые и DSB-независимые механизмы узнавания и синапсиса хромосом, и, возможно, у разных организмов эти механизмы используются в разной степени (Burgess, 2002). У дрожжей *S. cerevisiae* разрезание двойной спирали ДНК эндонуклеазой Spo11 (рис. 2.1)

и начало молекулярных явлений, приводящих к рекомбинации, необходимы для инициации синапсиса гомологичных хромосом (Giroux et al., 1989, Keeney et al., 1997). Считается, что одноцепочечные концы молекулы ДНК, возникшие после разрезания ДНК эндонуклеазой Spo11, используются для узнавания и первичного контакта гомологичных сайтов, и в этих сайтах иницируется формирование СК (рис. 2.2). То же самое относится и к другим организмам (Lichten, 2001; Burges et al., 2002). DSB-зависимый механизм синапсиса лучше всего изучен у дрожжей *S. cerevisiae*. Однако и у них есть запасной путь спаривания без DSB. Запасной вариант реализуется у мутантов по генам ферментов, ответственных за возникновение и процессинг DSB, у которых эти ферменты оказываются в дефиците (Burgess, 2002, People et al., 2002). У гриба *Coprinus cinereus* значительная часть точек спаривания гомологов возникает в отсутствие DSBs, хотя последние существенно улучшают правильный синапсис гомологичных хромосом (Celerin et al., 2000). Нако-

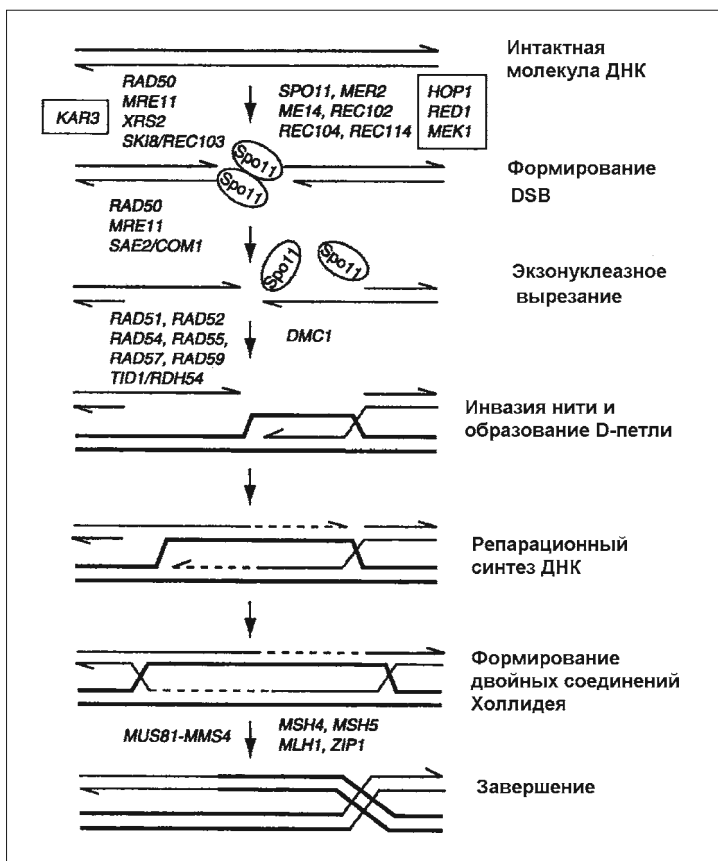


Рис. 2.1. Схема явлений на молекулярном уровне в ходе кроссинговера. Обозначены молекулы ДНК, принадлежащие только двум несестринским хроматидам, тем которые участвуют в процессе кроссинговера.