

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова  
Российской академии наук

**Ю.Ф. Богданов, Т.М. Гришаева**

# **КОНСЕРВАТИЗМ, ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ЭВОЛЮЦИЯ МЕЙОЗА**

**Товарищество научных изданий КМК  
Москва ❖ 2020**

УДК 575.8:576.354.4  
ББК 28.02+28.05  
Б73

**Ю.Ф. Богданов, Т.М. Гришаева.** Консерватизм, изменчивость и эволюция мейоза. — Москва: Товарищество научных изданий КМК. 2020. 345 с., ил.

Книга посвящена изложению знаний о молекулярных и клеточных механизмах мейоза — особого клеточного деления, лежащего в основе полового размножения эукариотических организмов — и поиску предполагаемых путей его формирования в ходе биологической эволюции. Проведен анализ проблемы, каким образом единообразие схемы и метаболических основ деления клеток путем мейоза (консерватизм мейоза) во всех филогенетических линиях растений, грибов и животных сочетается с изменчивостью цитологических (микроскопических и ультраструктурных) картин мейоза. Приводятся доказательства существования «стержневого» комплекса белков рекомбинации ДНК, на основе которого эволюционно сформировался мейоз, и описана изменчивость белков, формирующих вспомогательные структуры мейоза, — мейоз-специфичные белковые оси хромосом, синаптонемные комплексы, а также доказательства существования мейоз-специфичных модификаций центромерных белков хромосом. Тип книги — сводка мировой литературы с добавлением глав оригинальных исследований авторов.

Книга предназначена для исследователей, преподавателей биологических вузов и студентов старших курсов.

© Ю.Ф. Богданов, Т.М. Гришаева,  
С.А. Симановский, текст, иллюстрации, 2020  
© Товарищество научных изданий КМК,  
издание, 2020

ISBN 978-5-907213-73-9

Vavilov Institute of General Genetics  
Russian Academy of Sciences

**Yu.F. Bogdanov, T.M. Grishaeva**

**CONSERVATION, VARIATION  
AND EVOLUTION OF MEIOSIS**

**KMK Scientific Press  
Moscow ❖ 2020**

UDC 575.8:576.354.4

**Yu.F. Bogdanov, T.M. Grishaeva.** Conservation, variation and evolution of meiosis. Moscow: KMK Scientific Press. 2020. 345 p., Il.

The book is devoted to a description of modern knowledge of molecular and cellular mechanisms, as well as to hypotheses of evolution of meiosis, a special type of cell division and one of the basic parts of sexual reproduction of eukaryotic organisms. The book analyzes how the uniformity of the plan and metabolic basis of meiotic cell division (conservation of meiosis) over all phylogenetic lineages of plant, fungi, and animals is compatible with variation in the cytological (microscopic and ultrastructural) patterns of meiosis. Evidence is provided that a core set of DNA recombination proteins reveals an ancient evolutionary origin to meiosis; that variation is characteristic of the proteins that form accessory meiotic structures, such as meiosis-specific protein axes of chromosomes and synaptonemal complexes, and that meiosis-specific modifications occur in chromosome centromere proteins. The world literature on the problem is reviewed and summarized, while some of the chapters describe the authors' original studies.

The book is intended for researchers, high school biology teachers, and senior students.

ISBN 978-5-907213-73-9

© Bogdanov Yu.F., Grishaeva T.M.,  
Simanovsky S.A., 2020  
© KMK Scientific Press, 2020

# Оглавление

<b>ПРЕДИСЛОВИЕ</b> .....	13
<b>Часть I. ВВЕДЕНИЕ В ПРОБЛЕМУ</b> .....	16
<i>Глава 1. БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ МЕЙОЗА, ЕГО ОСНОВНЫЕ ПРАВИЛА И МАТЕРИАЛ ДЛЯ ЕГО ИЗУЧЕНИЯ</i> .....	16
Биологическая роль мейоза.....	16
Место мейоза в жизненном цикле организмов .....	17
Основные закономерности мейоза .....	17
Консервативные (универсальные) механизмы мейоза .....	20
Изменчивые механизмы мейоза .....	21
Биологический материал для изучения мейоза .....	22
<i>Глава 2. КРАТКИЙ ИСТОРИЧЕСКИЙ ОЧЕРК ИССЛЕДОВАНИЯ МЕЙОЗА</i> .....	24
<b>Часть II. КОНСЕРВАТИЗМ МЕЙОЗА</b> .....	29
<i>Глава 3. КАНОНИЧЕСКИЙ МЕЙОЗ</i> .....	29
Хромосомы в премейотической интерфазе и профазе I.....	30
Метафаза I и анафаза I. Их отличие от метафазы и анафазы митоза.....	38
Сегрегация гетероморфных половых хромосом в мейозе I.....	40
Мейоз II.....	40
Заключение .....	42
<i>Глава 4. МЕЙОТИЧЕСКАЯ РЕКОМБИНАЦИЯ, КРОССИНГОВЕР, ХИАЗМЫ</i> .....	43
Кроссоверный и некроссоверный пути рекомбинации в мейозе.	
История исследований .....	44
Два ферментативных пути кроссинговера .....	47
Инициация рекомбинации .....	49
Инвазия однострессовой ДНК и D-петля .....	52
Структуры Холлидея .....	53
Комплекс белков ZMM и кроссинговер I типа.....	54
Регуляция кроссинговера .....	56
Генный контроль сопряженных процессов рекомбинации и синапсиса (построения синаптомембранного комплекса) .....	57
Подробности «выбора» кроссоверного или некроссоверного пути мейотической рекомбинации .....	59
Горячие и холодные точки двунитевых разрывов ДНК .....	61
Интерференция кроссинговера.....	63
Рекомбинационные узелки на синаптомембранных комплексах и их роль в кроссинговере.....	67
Хиазмы.....	72
Заключение .....	74

<b>Глава 5. ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЙОТИЧЕСКИХ ХРОМОСОМ, ИХ ТРАНСКРИПЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ И ПРОБЛЕМА ВЗАИМНОГО УЗНАВАНИЯ ГОМОЛОГИЧНЫХ ЛОКУСОВ</b> .....	76
Сравнение физических параметров хромосом в митозе и мейозе .....	76
Общие закономерности организации мейотических хромосом .....	81
Транскрипция хромосом в мейозе .....	82
Проблема взаимного узнавания гомологичных локусов хромосом .....	86
Заключение .....	90
<b>Глава 6. ОСОБЕННОСТИ МЕЙОЗА В ХОДЕ ООГЕНЕЗА</b> .....	92
Дифференцировка оогониев и появление ооцитов и трофоцитов .....	93
Особенности мейоза в ходе оогенеза .....	95
Стадия диплотены при солитарном типе развития ооцита .....	97
Стадия диплотены (диктиотены) при нутриментарном типе оогенеза .....	102
Кариосфера/кариосома и сайленсинг хромосом в оогенезе .....	103
I и II деления мейоза в ходе оогенеза .....	109
<b>Глава 7. МЕЙОЗ И ЕГО ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ У ПОКРЫТОСЕМЕННЫХ РАСТЕНИЙ (С.А. Симановский, Ю.Ф. Богданов)</b> .....	112
Место мейоза в жизненном цикле растений .....	112
Мужской мейоз в ходе микроспорогенеза .....	113
Женский мейоз в ходе мегаспорогенеза .....	114
Краткая история исследования генов мейоза у растений .....	116
Генетический контроль дифференциации и формирования мейоцитов .....	118
Генный контроль вступления в мейоз .....	119
Генный контроль когезии сестринских хроматид .....	122
Гены формирования фигуры «букета» .....	124
Мейотическая рекомбинация .....	125
Ранние гены мейотической рекомбинации .....	126
Генный контроль спаривания и синапсиса гомологичных хромосом .....	128
Генный контроль сборки синаптонемных комплексов .....	129
Гены спаривания и синапсиса хромосом у полиплоидов .....	131
Освобождение от когезии сестринских хроматид и роль белков-шугошинов .....	132
Гены вступления в мейоз II .....	132
Заключение .....	133
<b>Глава 8. ХРОНОЛОГИЯ МЕЙОЗА (Ю.Ф. Богданов, Н.А. Ляпунова, С.А. Симановский)</b> .....	135
<b>Часть III. ИЗМЕНЧИВОСТЬ МЕЙОЗА</b> .....	143
<b>Глава 9. МЕЙОЗ У ДЕЛЯЩИХСЯ ДРОЖЖЕЙ <i>SCHIZOSACCHAROMYCES</i> <i>POMBE</i></b> .....	143
Жизненный цикл <i>S. pombe</i> .....	143
Смена фаз жизненного цикла .....	144
Необычная профазы I мейоза. «Конский хвост» .....	147
Ультраструктура клеточных ядер в профазе I .....	152

Молекулярная организация и ультраструктура линейных элементов .....	153
Функция линейных элементов, их роль в рекомбинации .....	156
<b>Глава 10. МЕЙОЗ У НЕМАТОДЫ <i>CAENORHABDITIS ELEGANS</i> — МОДЕЛЬ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ СВЯЗИ СИНАПСИСА ХРОМОСОМ И КРОССИНГОВЕРА .....</b>	
<i>C. elegans</i> как объект для изучения мейоза .....	159
Премейотические хромосомы .....	161
Лептотена и зиготена в «транзитной зоне» гонады .....	162
Синапсис и построение СК.....	166
Инициация рекомбинации.....	169
Мейотический кроссинговер .....	170
Особенности событий рекомбинации у <i>C. elegans</i> .....	171
Пахитена .....	174
Ремоделирование хромосом в поздней профазе I.....	175
Редукционное деление хромосом в мейозе I.....	177
Заключение. Эволюционный аспект изучения мейоза у <i>C. elegans</i> .....	177
<b>Глава 11. НЕСТАНДАРТНЫЙ МЕЙОЗ У ДРОЗОФИЛЫ — КЛАССИЧЕСКОГО ОБЪЕКТА ГЕНЕТИКИ .....</b>	
Общая морфология гонад у дрозофилы.....	180
Начало мейоза: инициация спаривания гомологичных хромосом.....	183
Синаптонемный комплекс у самок дрозофилы.....	183
Кроссинговер, рекомбинационные узелки, хиазмы .....	187
Хромоцентр .....	189
Особенности делений мейоза у дрозофилы .....	191
Заключение .....	194
<b>Глава 12. АХИАЗМАТИЧЕСКИЙ МЕЙОЗ У САМОК ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА <i>BOMBYX MORI</i> И ОСОБЕННОСТИ МЕЙОЗА У ЕГО ПОЛИПЛОИДОВ.....</b>	
Мейоз у диплоидов. Профаза I .....	197
Метафаза I и анафаза I у самцов .....	202
Первое деление мейоза и завершение мейоза у самок.....	202
Мейоз у полиплоидов.....	203
<b>Глава 13. ИНВЕРТИРОВАННЫЙ МЕЙОЗ И ЕГО МЕСТО В ЭВОЛЮЦИИ ...</b>	
Суть инверсии мейоза .....	208
Холоцентрические хромосомы.....	208
Инверсия мейоза у растений.....	211
Доказательство эквационного характера мейоза I у <i>Luzula</i> .....	217
Инвертированный мейоз у <i>Rhynchospora</i> , семейство Cyperaceae.....	218
Инвертированный мейоз у насекомых.....	220
Смешанный тип мейоза у полужесткокрылых насекомых (Hemiptera, Heteroptera) .....	224
Решённые и нерешённые вопросы.....	225

Попытки ревизии представлений об инвертированном мейозе .....	227
Место инвертированного мейоза в эволюции путей полового размножения .....	228
<b>Глава 14. КОНСЕРВАТИЗМ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ БЕЛКОВ</b>	
<b>СИНАПТОНОМНОГО КОМПЛЕКСА .....</b>	<b>231</b>
Эволюционная загадка белков синаптонемных комплексов и ее решение .....	236
Самосборка простых белков — принцип построения синаптонемного комплекса .....	241
<b>Часть IV. ЭВОЛЮЦИЯ МЕЙОЗА .....</b>	<b>246</b>
<b>Глава 15. КОНСЕРВАТИЗМ И ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЯДЕРНЫХ БЕЛКОВ.</b>	
<b>БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ.....</b>	<b>246</b>
Сравнение отдельных групп ядерных белков с белками прокариот.....	247
Многообразие белков, формирующих синаптонемные комплексы у эукариот.....	251
Эволюционный консерватизм белков рекомбинации и изменчивость мейоз-специфичных белков хромосом.....	254
<b>Глава 16. СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СТРУКТУРНЫХ БЕЛКОВ</b>	
<b>МЕЙОЗА МЕТОДАМИ БИОИНФОРМАТИКИ.....</b>	<b>260</b>
Стратегия поиска белков синаптонемного комплекса .....	260
Когезины: сравнение мейотических и митотических форм белков.....	262
Мейотические формы шугошинов — протекторов когезии центромер — не являются консервативным семейством белков .....	273
<b>Глава 17. ПРОБЛЕМА ЭВОЛЮЦИИ МЕЙОЗА .....</b>	
Предыстория мейоза.....	279
Нетрадиционный взгляд на роль кроссинговера в биологической эволюции .....	283
Исследование мейоза у одноклеточных организмов — ресурс для изучения эволюции мейоза.....	284
Реликтовые механизмы мейоза.....	287
Заключение .....	290
<b>ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>	<b>291</b>
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>295</b>
<b>ПРИЛОЖЕНИЕ .....</b>	<b>331</b>
<b>ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ .....</b>	<b>341</b>
Указатель основных латинских названий биологических родов и видов.....	344
Указатель биологических таксонов разного ранга выше, чем род .....	345
Указатель аббревиатур международных названий белков и структур ДНК.....	345

# Contents

<b>PREFACE</b> .....	13
<b>Part I. INTRODUCTION TO THE PROBLEM</b> .....	16
<i>Chapter 1. BIOLOGICAL ROLE OF MEIOSIS, BASIC RULES OF MEIOSIS, AND MATERIAL TO STUDY MEIOSIS</i> .....	16
Biological role of meiosis .....	16
Place of meiosis in the life cycles of organisms .....	17
Main regularities of meiosis .....	17
Conserved (universal) mechanisms of meiosis .....	20
Variable mechanisms of meiosis .....	21
Biological material to study meiosis .....	22
<i>Chapter 2. A BRIEF HISTORY OF RESEARCH INTO MEIOSIS</i> .....	24
<b>Part II. CONSERVATION OF MEIOSIS</b> .....	29
<i>Chapter 3. CANONICAL MEIOSIS</i> .....	29
Chromosomes in premeiotic interphase and prophase I .....	30
Metaphase I and anaphase I. Their differences from mitotic metaphase and mitotic anaphase. ....	38
Segregation of heteromorphic sex chromosomes in meiosis I .....	40
Meiosis II .....	40
Conclusions .....	42
<i>Chapter 4. MEIOTIC RECOMBINATION. CROSSING OVER, CHIASMATA</i> .....	43
Crossover and noncrossover Recombination Pathways in Meiosis.	
A History of Research.....	44
Two metabolic Pathways of Crossing over .....	47
Initiation of recombination .....	49
DNA strand invasion and a D loop .....	52
Holliday structures .....	53
Complex of ZMM proteins and type I crossing over .....	54
Regulation of Crossing over .....	56
Genetic control of the associated process of recombination and synapsis (synaptonemal complex assembly) .....	57
Choice between the crossover and non-crossover pathways of meiotic recombination in detail .....	59
Hot spots and cold spots of double-strand DNA breaks .....	61
Crossingover interference.....	63
Recombination nodules on synaptonemal complexes and their role in crossing over.....	67
Chiasmata.....	72
Conclusions .....	74

<b>Chapter 5. ORGANIZATION OF MEIOTIC CHROMOSOMES, THEIR TRANSCRIPTIONAL ACTIVITY, AND THE PROBLEM OF MUTUAL RECOGNITION OF HOMOLOGOUS LOCI</b> .....	76
Physical parameters of chromosomes compared between mitosis and meiosis .....	76
Common regularities in the organization of meiotic chromosomes .....	81
Transcription of meiotic chromosomes .....	82
The problem of mutual recognition of homologous chromosome loci .....	86
Conclusions .....	90
<b>Chapter 6. SPECIFICS OF MEIOSIS IN OOGENESIS</b> .....	92
Differentiation of oogonia and the origin of oocytes and trophocytes .....	93
Specifics of meiosis in oogenesis .....	95
Diplotene in a solitary type of oocyte development .....	97
Diplotene (dictyotene) in a nutritmentary type of oogenesis .....	102
Karyosphere/karyosome and chromosome silencing in oogenesis .....	103
First and second meiotic divisions in oogenesis .....	109
<b>Chapter 7. MEIOSIS AND ITS GENETIC CONTROL IN ANGIOSPERMS</b> ( <i>S.A. Simanovsky and Yu.F. Bogdanov</i> ) .....	112
Place of meiosis in the plant life cycle .....	112
Male meiosis in microsporogenesis .....	113
Female meiosis in megasporogenesis .....	114
A brief history of research into plant meiotic genes .....	116
Genetic control of meiocyte differentiation and formation .....	118
Genetic control of entry into meiosis .....	119
Genetic control of sister chromatid cohesion .....	122
Genes required for bouquet formation .....	124
Meiotic recombination .....	125
Early meiotic recombination genes .....	126
Genetic control of homologous chromosome pairing and synapsis .....	128
Genetic control of synaptonemal complex assembly .....	129
Genes affecting chromosome pairing and synapsis in polyploids .....	131
Release of sister chromatid cohesion and the role of shugoshins .....	132
Genes involved in the entry into meiosis II .....	132
Conclusions .....	133
<b>Chapter 8. CHRONOLOGY OF MEIOSIS</b> ( <i>Yu.F. Bogdanov, N.A. Lyapunova, S.A. Simanovsky</i> ) .....	135
<b>Part III. VARIATION OF MEIOSIS</b> .....	143
<b>Chapter 9. MEIOSIS IN THE FISSION YEAST SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE</b> .....	143
The <i>S. pombe</i> life cycle .....	143
Change of life-cycle phases .....	144
Unusual meiotic prophase I. Horsetail stage .....	147
Ultrastructure of the cell nucleus in prophase I .....	152

Molecular organization and ultrastructure of linear elements .....	153
Function of linear elements and their role in recombination .....	156
<i>Chapter 10. MEIOSIS IN THE NEMATODE CAENORHABDITIS ELEGANS:</i> <b>A MODEL TO STUDY THE ASSOCIATION BETWEEN CHROMOSOME</b> <b>SYNAPSIS AND CROSSING OVER .....</b>	<b>159</b>
<i>Caenorhabditis elegans</i> as a model to study meiosis .....	159
Premeiotic chromosomes .....	161
Leptotene and zygotene in the transition zone of the gonad .....	162
Synapsis and synaptonemal complex formation .....	166
Recombination initiation .....	169
Meiotic crossing over .....	170
Specifics of recombination events in <i>C. elegans</i> .....	171
Pachytene .....	174
Chromosome remodeling in late prophase I .....	175
Reduction division in meiosis I .....	177
Conclusions. The evolutionary aspect of research into <i>C. elegans</i> meiosis .....	177
<i>Chapter 11. NONCANONICAL MEIOSIS IN DROSOPHILA,</i> <b>A CLASSIC MODEL OF GENETICS .....</b>	<b>179</b>
General morphology of the <i>Drosophila</i> gonads .....	180
Start of meiosis: Initiation of homologous chromosome pairing .....	183
Synaptonemal complex in female <i>Drosophila</i> .....	183
Crossing over, recombination nodules, and chiasmata .....	187
Chromocenter.....	189
Specifics of meiotic divisions in <i>Drosophila</i> .....	191
Conclusions .....	194
<i>Chapter 12. ACHIASMATIC MEIOSIS IN FEMALES OF THE SILKWORM</i> <i>BOMBYX MORI</i> AND SPECIFICS OF MEIOSIS IN ITS POLYPLOIDS .....	196
Meiosis in diploids. Prophase I .....	197
Metaphase I and anaphase I in males .....	202
First meiotic division and completion of meiosis in females .....	202
Meiosis in polyploids .....	203
<i>Chapter 13. INVERTED MEIOSIS AND ITS PLACE IN EVOLUTION .....</i>	<b>207</b>
What is inverted meiosis? .....	208
Holocentric chromosomes .....	208
Inverted meiosis in plants .....	211
Evidence for the equational mode of meiosis I in <i>Luzula</i> .....	217
Inverted meiosis in <i>Rhynchospora</i> , family Cyperacea .....	218
Inverted meiosis in insects .....	220
Mixed type of meiosis in hemipterans (Hemiptera, Heteroptera) .....	224
Solved and unsolved problems .....	225
Attempts to revise the views of inverted meiosis .....	227
Place of inverted meiosis in evolution of sexual reproduction pathways .....	228

<i>Chapter 14. CONSERVATION AND VARIATION OF SYNAPTONEMAL COMPLEX PROTEINS</i> .....	231
The evolutionary enigma of synaptonemal complex proteins and its solution .....	236
Simple protein self-assembly as a principle of synaptonemal complex construction .....	241
<b>Part IV. EVOLUTION OF MEIOSIS</b> .....	246
<i>Chapter 15. CONSERVATION AND VARIATION OF NUCLEAR PROTEINS. A BIOINFORMATICS ANALYSIS</i> .....	246
Comparison of particular groups of nuclear proteins with prokaryotic proteins .....	247
Diversity of synaptonemal complex proteins in eukaryotes .....	251
Evolutionary conservation of recombination proteins and variation of meiosis-specific chromosome proteins .....	254
<i>Chapter 16. COMPARATIVE BIOINFORMATICS ANALYSIS OF STRUCTURAL MEIOTIC PROTEINS</i> .....	260
Strategy of searching for synaptonemal complex proteins .....	260
Cohesins: A comparison of meiotic and mitotic protein forms .....	262
Meiotic forms of shugoshins, which are centromere cohesion protectors, are not a conserved protein family .....	273
<i>Chapter 17. THE PROBLEM OF EVOLUTION OF MEIOSIS</i> .....	278
Pre-History of meiosis .....	279
Nonconventional views of the role that crossing over plays in biological evolution .....	283
Studies of meiosis in unicellular organisms as a resource to investigate evolution of meiosis .....	284
Relic mechanisms of meiosis .....	287
Conclusions .....	290
<b>CONCLUDING REMARKS</b> .....	291
<b>LITERATURE</b> .....	294
<b>SUPPLEMENT</b> .....	331
<b>SUBJECT INDEX</b> .....	341
Index of Latin Names of Genera and Species.....	344
Index of Suprageneric Latin Names .....	345
Index of International Protein and DNA Structures Abbreviations.....	345

# Предисловие

Эту книгу, скорее всего, возьмут в руки те, кто уже имеет представление о мейозе, о его биологическом значении, о роли мейоза и о том, какое место эти знания занимают в системе биологических наук. Но, предваряя знакомство с книгой, нам представляется целесообразным напомнить основные моменты из истории науки и биологического образования.

Митоз и мейоз были открыты во второй половине XIX века. В начале XX века биологам стало ясно, что закономерности поведения хромосом при мейозе и оплодотворении определяют законы наследственности. Мейоз был в центре внимания цитологов и генетиков на протяжении первых 40 лет XX века. Вторая мировая война вызвала замедление в развитии биологии. Затем в 1950-е годы возникла молекулярная биология, и основным направлением исследований стали структура гена, регуляция транскрипции и трансляции генетической информации. В 1970-е годы появилась генная инженерия, биотехнология, затем — геномика. Любая наука всегда развивается неравномерно. В разное время основными направлениями становятся разные ветви (дисциплины) той или иной науки, и они пользуются наибольшим вниманием, финансированием и притоком молодых исследователей. Исследования мейоза отошли на второй план во всем мире в 1960–1990-х гг.

В передовых в научном отношении странах в силу моды на изучение центральной догмы молекулярной биологии (передачи наследственной информации по цепи структур ДНК-РНК-белок) умы учёных были в массе направлены именно в эту сторону. Мейозом интересовались единичные ученые (с хорошим образованием) и занимались немногие лаборатории. Иллюстрировать существовавшее положение вещей можно таким примером. В изданных в 1989–1991 гг. фундаментальных учебниках для американских университетов (Suzuki et al., 1989; Singer, Berg, 1991; перевод на русский язык: Сингер, Берг, 1998) представления об энзимологии генетической рекомбинации и кроссинговера — явлений, лежащих в основе мейоза — излагались на материале генетической рекомбинации бактерий *Escherichia coli* (не имеющих мейоза). Авторы ссылались на то, что рекомбинация ДНК унаследована эукариотами от прокариот, хотя в это время уже были известны эукариотические гомологи генов рекомбинации и, в частности, гены, контролирующие кроссинговер у дрозофилы, кукурузы. Были известны ферменты рекомбинации у эукариотического организма — почкующихся дрожжей, с их классическим мейозом. Этот объект был хорошо известен молекулярным биологам, но элитные педагоги-профессора о кроссинговере у него написать не догадались. Аналогичная ситуация имела место и с российскими учебниками, включая учебники для университетов, изданные в начале XXI века, где энзимология и теория мейотического кроссинговера излагаются на уровне данных 1960-х гг.

Одновременно с таким положением вещей в сфере учебников в 1990-е годы экспериментальные исследования мейоза пережили новое рождение сразу в нескольких лабораториях мира. Развитие молекулярной и клеточной биологии, появление

новых методов исследования клеток (особенно — иммуноцитохимии), успешное секвенирование геномов многих организмов создали экспериментальную базу для изучения тех молекулярных основ мейоза, о которых только гадали (и создавали умозрительные гипотезы) цитологии и генетики 1920-х и 1930-х годов. К началу XXI века исследования молекулярных основ мейоза вышли на заметное место в потоке мировой литературы. Международные конференции — Гордоновские конференции в США и конференции EMBO в Европе — стали специально посвящаться целиком вопросам мейоза. Начиная с 1994 г., они чередуются так, что ежегодно проходит одна из них и собирает 200–300 ученых из Америки, Европы, а из азиатских стран — особенно из Японии.

В СССР аналогичная мировой моде потеря интереса к углубленному изучению мейоза во второй половине XX века усугубилась официальным запретом со стороны правительства СССР преподавать и разрабатывать хромосомную теорию наследственности. Это было сделано в 1948 году в угоду так называемой мичуринской биологии (догмам Т.Д. Лысенко) и обернулось массовыми увольнениями образованных преподавателей вузов и исследователей. Запрет был снят в 1965 г., но нанесённый образованию и науке урон сказывался долго. Из науки выпало целое поколение учёных и преподавателей в области генетики. Особенно это сказалось вдали от крупных научных центров. Восстановление «прав» хромосомной теории наследственности в СССР происходило в 1960–1970-е гг. и шло по линии наибольшего внимания к разработке деталей центральной догмы и теории гена. Молекулярные основы мейоза оставались вне поля зрения подавляющего большинства исследователей и педагогов.

Безусловно, никакая исследовательская работа, например, в области генетики и селекции растений, не прекращалась ни в СССР, ни в новой России ни в какие годы. Созидательная работа многих селекционеров шла с использованием знаний мейоза и умения наблюдать этот процесс под микроскопом. Этому есть много примеров в научных публикациях советского и постсоветского периодов. Однако, по многим причинам, включая отставание образования в области генетики и проблемы с доступностью иностранной литературы и недостаточного уровня финансирования в большинстве научных и селекционных учреждений использование знаний о мейозе не выходило за пределы наблюдения под микроскопом относительно легко наблюдаемых аномалий мейоза. Легче наблюдать видимые стадии мейоза, констатировать аномалии, приводящие к снижению или потере фертильности, например, наследование (или потерю) хромосом, чем исследовать биохимию мейоза. Это особенно относилось и относится к генетическим и селекционным работам с растениями. Диапазон экспериментальных методов изучения геномов, хромосом и процессов, лежащих в основе мейоза и размножения растений и животных, в зарубежных странах до сих пор остается более богатым, чем в России. Специализированные исследования мейоза в России методами современной генетики и клеточной биологии ведутся лишь в единичных группах и лабораториях в Москве, Петербурге, Новосибирске. При этом несколько хороших исследователей из России, увлеченных проблемами мейоза, вынужденно занимались и занимаются ими в лабораториях США и Европы.

Цель нашей книги — обновить багаж знаний о мейозе у российских исследователей, преподавателей, аспирантов и студентов вузов. Не будучи преподавателя-

ми вузов, авторы книги привлекают внимание читателей лишь к одной, но крупной и важной проблеме мейоза: мейоз консервативен и изменчив одновременно. При этом важно понять, как совмещаются эти крайности и как это сложилось в ходе эволюции?

В нашей книге мы сосредоточили внимание на ключевых вопросах общей проблемы мейоза. Это узнавание и синапсис гомологичных хромосом, мейотическая рекомбинация в целом, кроссинговер и хиазмы, в частности, а также структура и функция центромер. Именно эти явления и структуры определяют специфику мейоза, его отличие от митоза. Мы не смогли включить в книгу такие вопросы, как структура и функция клеточных центров и полярных тел веретена, динамика ядерной оболочки и органелл цитоплазмы. Эти вопросы, несомненно, существенны, но не являются ключевыми для описания сути мейоза и его отличий от митоза, для сравнения консервативных и изменчивых признаков мейоза и попыток реконструкции путей его эволюции. Стремление охватить их могло бы привести к тому, что книга не была бы закончена в разумные сроки или не закончена вообще.

Наша книга написана на основе мировой литературы. Её написанию предшествовали обзорные статьи, материалы которых были использованы при написании книги (Богданов, 2003, 2004, 2008, 2016а, б, 2017; Богданов, Гришаева, 2020; Гришаева, Богданов, 2000, 2019). Используются также материалы исследований Богданова, Гришаевой и соавторов, которые цитируются в соответствующих главах. Глава 7 «Мейоз и его генетический контроль у покрытосеменных растений» написана С.А. Симановским совместно с Ю.Ф. Богдановым на основе обзорной статьи (Симановский, Богданов, 2018). Глава 8 «Хронология мейоза» составлена Ю.Ф. Богдановым и С.А. Симановским на основе публикации Ляпуновой и Богданова (1975).

Мы благодарим профессора Л.В. Высоцкую (Новосибирский госуниверситет), проф. П.М. Бородину и к.б.н. А.А. Торгашеву (ИЦиГ СО РАН, Новосибирск), проф. Е.Р. Гагинскую (СПбГУ, Петербург), проф. Д.С. Боголюбова (ИНЦ РАН, Петербург), проф. А.В. Родионова (БИН РАН, Петербург), проф. Л.Ф. Курило (Медико-генетический научный центр, Москва), проф. О.Л. Коломиец, члена-корреспондента РАН И.А. Захарова-Гезехуса (ИОГен РАН, Москва) и д.б.н. И.Н. Голубовскую (Калифорнийский университет, Беркли, США) за прочтение отдельных разделов книги в ходе их подготовки и полезные комментарии и рекомендации. Будем благодарны за конструктивные замечания и пожелания со стороны читателей.

*Ю.Ф. Богданов  
Т.М. Гришаева*

# Часть I.

## ВВЕДЕНИЕ В ПРОБЛЕМУ

### *Глава 1.*

## Биологическая роль мейоза, его основные правила и материал для его изучения

### Биологическая роль мейоза

Путем мейоза клетки делятся один раз в жизненном цикле любого эукариотического организма, способного размножаться половым путём. Мейоз необходим для передачи хромосом в ряду поколений организмов от родителей потомкам, и в этом состоит биологическая роль мейоза. Эта роль отличается от биологической роли митоза, которая состоит в передаче хромосом в череде клеточных поколений в пределах одного организма.

Результаты мейоза сложнее, чем результаты митоза. В ходе мейоза хромосомы не только передаются из материнских клеток в дочерние, но еще и число их уменьшается вдвое, и они разделяются точно на два гаплоидных набора (генома). Затем гаплоидные наборы хромосом попадают в половые клетки — гаметы. Но сначала в ходе мейоза происходит рекомбинация генов. Она состоит из двух явлений. 1. При редукции числа хромосом происходит случайная комбинация этих хромосом, попадающих в гаплоидные наборы. Диплоидный организм получил свои хромосомы ранее от матери и отца (назовем их «материнскими» и «отцовскими» хромосомами), а когда он производит свои гаметы, то во время мейоза совершается перетасовка материнских и отцовских хромосом, попадающих в его гаметы. 2. При разделении гаплоидных наборов хромосом происходит рекомбинация (обмен) сегментов материнских и отцовских (гомологичных) хромосом — генетический обмен (кроссинговер) внутри групп сцепления генов.

Мейоз — неотъемлемая часть полового процесса у эукариот. Обратной стороной мейоза служит оплодотворение: две гаплоидные клетки, гаметы (у большинства организмов — мужская и женская гаметы) соединяются попарно, чтобы образовать зиготу, из которой развивается новый организм с диплоидным числом хромосом.

## Место мейоза в жизненном цикле организмов

Схема мейоза одинакова у растений, грибов и животных, несмотря на то, что в разных филогенетических ветвях эукариот мейоз занимает разное место в жизненном цикле организмов. У животных мейоз происходит в конце диплоидной фазы жизненного цикла. Это терминальный, **или гаметный, мейоз**. У грибов он происходит в начале диплоидной фазы, в зиготе. Это **зиготный мейоз**. Наибольшую часть жизненного цикла грибы проводят в гаплоидной фазе. У растений мейоз занимает **промежуточное положение** между длинной диплоидной фазой (диплофит или спорофит) и короткой гаплоидной стадией (споры, гаплофит).

Первая задача этой книги — описание общих причин консервативности схемы мейоза. Вторая задача книги — иллюстрация изменчивости мейоза конкретными примерами и описание причин этой изменчивости (не нарушающей общего правила консервативности мейоза). И, наконец, эта книга даёт представление о важной нерешенной проблеме: как мог возникнуть мейоз и подвергался ли он эволюции?

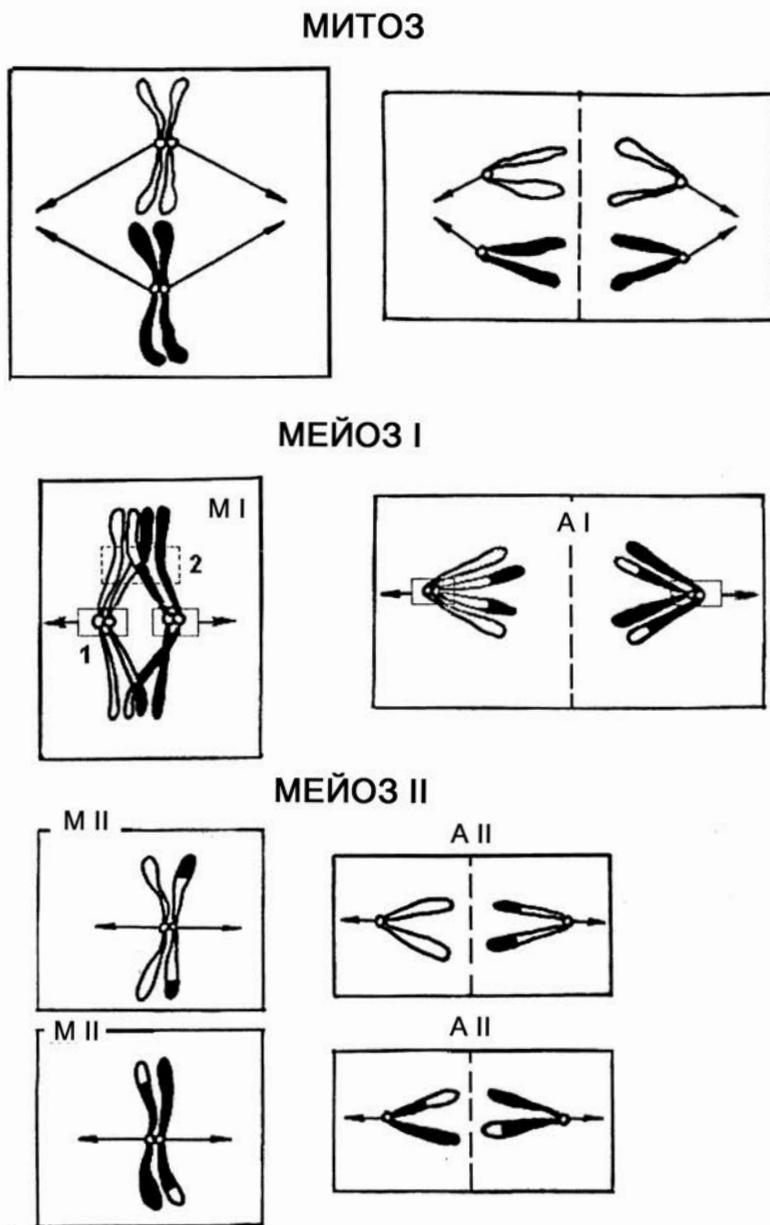
## Основные закономерности мейоза

На первый взгляд, основные события мейоза могут быть описаны прямолинейно математически: диплоидная клетка проходит через один цикл репликации ДНК, а затем два раза делится. Эти деления называются первым и вторым делениями мейоза, или мейозом I и мейозом II. Но каким образом можно разделить диплоидное число хромосом точно пополам и развести эти гаплоидные наборы хромосом в две дочерние клетки? Известно, что живая природа использует рациональные решения. Простой способ разделить некоторое число парных предметов на две равные группы — соединить их попарно, выстроить пары в две линии (шеренги) и затем сразу развести эти линии-шеренги в противоположные стороны. Иными словами, выполнить действия, аналогичные армейским командам, с помощью которых солдаты строятся в две шеренги, а затем эти шеренги расходятся в противоположные стороны.

В отношении хромосом нужно, прежде всего, спарить гомологичные хромосомы. Для этого они должны сначала узнать друг друга. Затем нужно построить пары хромосом на экваторе клеточного деления и развести партнёров к противоположным полюсам. При этом надо не забыть, что каждая хромосома должна сохранять обе продольные половины — хроматиды, продукты репликации ДНК.

Именно такие манёвры происходят с хромосомами в первом делении мейоза (Мейоз I). Хромосомы сначала разбираются внутри ядра по парам (спаривание и тесное соединение хромосом бок о бок, называемое синапсисом или конъюгацией) и выстраиваются попарно на экваторе веретена клеточного деления. Затем нити этого веретена (по «команде») разводятся две «шеренги» гомологичных хромосом к противоположным полюсам. А в мейозе II в дочерние клетки расходятся хроматиды каждой хромосомы. Они именуются сестринскими хроматидами (рис. 1.1).

Какие физические условия в клетке нужны для этих манёвров в мейозе I и мейозе II? Опишем эти условия или правила, которые должны быть выполнены для равной ре-



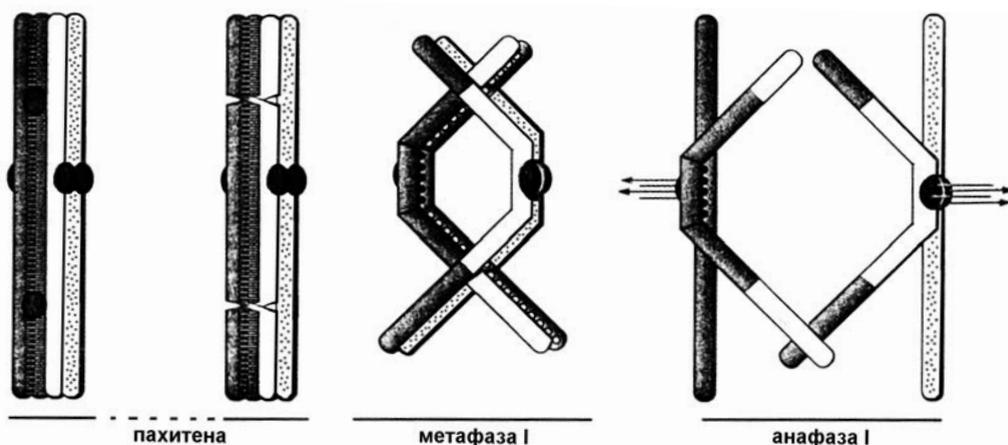
**Рис. 1.1.** Сравнительная схема митоза и мейоза.

Рамкой с цифрой 1 обозначены центромерные районы хромосом, каждый из которых содержит две центромеры сестринских хроматид. Рамкой с цифрой 2 обозначена хиазма. MI, AI, MII, AII — метафазы и анафазы двух делений мейоза соответственно.

дукции числа хромосом и превращения диплоидных клеток в гаплоидные. Эти правила распространяются на все эукариотические организмы, имеющие мейоз, несмотря на разнообразие морфологических картин и вспомогательных механизмов мейоза.

**Прежде всего, «материнские» и «отцовские» хромосомы диплоидного набора должны узнать друг друга, чтобы построиться попарно в мейозе I.** Это происходит на основе узнавания гомологичных локусов этих хромосом, на основе гомологии ДНК. У большинства организмов это прямой контакт гомологичных молекул ДНК. В этом процессе участвуют белки-ферменты и белки-медиаторы (посредники), которые создают условия для временного соединения гомологичных локусов ДНК. У некоторых организмов (см. главы 10 и 11) контакт гомологичных хромосом и первоначальный синاپсис происходят без взаимного узнавания гомологичных локусов молекул ДНК. В этих случаях он происходит с помощью выравнивания хромосом и через структурные белки-посредники, но опять же узнающие одинаковые (гомологичные) последовательности нуклеотидов ДНК в паре гомологичных хромосом.

**Соединённые в пары (пары называются бивалентами) гомологичные хромосомы должны прочно удерживаться вместе (не разъединяться) при маневрах, которые они совершают для построения «в две шеренги» на экваторе клеточного деления в мейозе I.** Прочность попарного соединения гомологичных хромосом в мейозе во время метафазы I мейоза перед началом их расхождения в дочерние клетки обеспечивается **хиазмами** — перекрёстами молекул ДНК (хроматид), возникшими в результате рекомбинации этих молекул — кроссинговера. Прочность соединения с помощью хиазм необходима, чтобы противостоять тянущим силам нитей веретена, соединяющих гомологичные хромосомы с противоположными полюсами клетки, пока не поступит сигнал к расхождению гомологов и не начнётся анафаза I. Необходимо од-



**Рис. 1.2.** Схемы бивалента гомологичных хромосом, состоящего из четырех хроматид (обозначены разной штриховкой или её отсутствием), и превращений, происходящих с бивалентом в ходе кроссинговера и формирования хиазм. Пахитена (часть профазы I), метафаза I и анафаза I — стадии мейоза I. Объяснения — в тексте.

новременное (синхронное) движение расходящихся хромосом в анафазе I, иначе механизм разделения цитоплазмы клеток (клеточная перетяжка у животных или клеточная пластинка у растений) могут отсечь и оставить отстающие хромосомы вне нового ядра.

Несинхронное расхождение хромосом при редукционном делении иногда встречается в природе как в результате мутаций генов клеточного деления, так и под влиянием внешних факторов. Такие случаи могут приводить к потере некоторых хромосом и, как следствие, к потере фертильности продуктов мейоза или к анеупloidии потомства, если зиготы образовались.

**В мейозе I сестринские хроматиды каждой хромосомы должны оставаться «склеенными» вместе и отходить к одному полюсу в анафазе I.** Они должны расойдаться в разные клетки только во втором делении мейоза (мейоз II). Эта склейка обычно сохраняется только в кинетическом центре хромосом (центромере), к которому крепятся нити веретена, растаскивающие хромосомы к полюсам клеточного деления.

Расхождение сестринских хроматид происходит в мейозе II. Для этого **не** нужны дополнительные условия, не нужна репликация хромосом. Хромосомы были реплицированы перед мейозом I, но, как сказано выше, хроматиды не разошлись. Поэтому после завершения мейоза I хромосомы сразу оказываются в фазе  $G_2$  нового клеточного цикла. Старые авторы иногда применяли к первому делению мейоза сравнение с делением, произошедшим преждевременно и поэтому не способным сохранить полный набор хромосом. Цель книги — показать, что это не так, и объяснить последовательность внутриклеточных явлений, неизбежно приводящих к закономерной редукции числа хромосом. Эта последовательность обусловлена активацией специфической генной программы мейоза, которая потенциально заложена в геноме всех эукариот, «молчит» (супрессирована) в соматических клетках, делящихся путем митоза, и активируется только на время одного цикла клеточного деления — на время мейоза I. А второе деление мейоза, мейоз II — это «отложенный» митоз клеток, вернувшихся к «рутинной» программе клеточного деления.

Из правила склеенности (когезии) сестринских хроматид в мейозе I есть исключение, так называемый инвертированный мейоз, в котором переставлен местами порядок событий: в мейозе I расходятся сестринские хроматиды, а в мейозе II — гомологичные хромосомы, но при этом остается один цикл репликации ДНК на оба деления мейоза (см. гл. 13 «Инвертированный мейоз»).

Соблюдение правил мейоза среди всех изученных эукариот обеспечивается благодаря **консерватизму молекулярных и надмолекулярных (клеточных) механизмов мейоза.** Они настолько сходны, что справедливы даже для кажущегося исключения — инвертированного мейоза.

Итак, в основе мейоза у всех эукариот лежат консервативные молекулярные структуры и консервативные механизмы их взаимодействия, которым не страшна определенная изменчивость, не затрагивающая их основу. Каковы эти консервативные механизмы?

## Консервативные (универсальные) механизмы мейоза

**Механизм редукции числа хромосом.** Физическая связь двух гомологичных хромосом в составе бивалента у всех эукариот возникает в профазе I мейоза с помощью рекомбинации (кроссинговера) и хиазм. Сначала возникают промежуточные продук-

ты рекомбинации молекул — структуры Холлидея, и в это время (у многоклеточных эукариот) связь гомологичных хромосом стабилизируется с помощью вспомогательных белковых структур — синаптонемных комплексов (СК) — или более простых структур — так называемых линейных элементов хромосом (у некоторых грибов). СК и линейные элементы соединяют хромосомы латерально (бок о бок), на время промежуточных этапов кроссинговера. А затем возникают физические обмены — **кроссинговер** несестринских хроматид, принадлежащих гомологичным хромосомам. Визуальным проявлением этой связи служат хиазмы — физические «перекрёсты», **кроссоверы** (результаты **процесса кроссиновера**) гомологичных хромосом. Хиазмы видны под микроскопом как морфологические перекресты хромосом, точнее — перекресты несестринских хроматид в составе бивалента. Хиазмы — результат кроссинговера, который совершается на молекулярном уровне.

После завершения формирования хиазм синаптонемные комплексы перестают быть нужными и разрушаются, а гомологичные хромосомы остаются соединёнными только с помощью единичных хиазм (не менее одной, чаще — двух, но не более четырех на бивалент хромосом). Хиазмы позволяют выстроиться бивалентам хромосом на экваторе веретена клеточного деления в метафазе I.

**Механизм для выполнения правила когезии сестринских хроматид в мейозе I.** «Склеенное» состояние сестринских хроматид — когезия — возникает сразу после репликации хромосомы в S-фазе клеточного цикла, когда в хромосоме появляются две хроматиды. Склеивка осуществляется с помощью белков-когезинов. В ходе митоза **когезия** хроматид прекращается при переходе от метафазы к анафазе потому, что когезины разрушаются ферментами гидролазами. **Однако в мейозе I когезия сестринских хроматид сохраняется в области центромер не только на протяжении метафазы I, но и в анафазе I и телофазе I, поскольку в этих районах когезины оказываются защищенными от гидролиза.** Эта защита осуществляется с помощью мейоз-специфичных белков шугошинов. **Шугошины** защищают «склеивку» (когезию) центромерных районов сестринских хроматид, принадлежащих одной хромосоме. При этом защитники-шугошины живут только во время одного клеточного цикла — в мейозе I — и исчезают из клеток во время мейоза II, позволяя внутриклеточным ферментам разрушить когезины и освободить сестринские хроматиды от их взаимной связи в центромерных районах. Иными словами, во время мейоза II ситуация оказывается такой же, как в митозе, и сестринские хроматиды могут разойтись. В отличие от мейоза, в митозе шугошины уходят из центромер при переходе от метафазы к анафазе.

## Изменчивые механизмы мейоза

Принцип конструкции синаптонемных комплексов, временно соединяющих гомологичные хромосомы в составе бивалентов в профазе I, одинаков у всех эукариот. Но у растений, грибов и животных синаптонемные комплексы состоят из разных белков. При одинаковом общем плане строения синаптонемные комплексы также имеют разную ультраструктуру, характерную для организмов в пределах таксона.

Кроме синаптонемных комплексов, широко распространённых у разных эукариот, есть и совсем «нестандартные» способы временного попарного соединения гомо-

логичных хромосом. Например, у самцов двукрылых насекомых (Diptera) нет рекомбинации хромосом в мейозе, и биваленты хромосом возникают на короткое время за счёт взаимодействия повторяющихся последовательностей нуклеотидов (рибосомной ДНК) и создания общих хромосомных территорий каждой пары хромосом. У самок чешуекрылых насекомых (бабочки, Lepidoptera) сильно модифицированные синаптонемные комплексы не разрушаются в поздней профазе I и препятствуют формированию хиазм. Но эти же не разрушившиеся СК выполняют функцию попарного удержания гомологичных хромосом на экваторе веретена клеточного деления в метафазе I, заменяя собою хиазмы, и редукционное деление гомологичных хромосом совершается. Подробности этих уникальных механизмов описаны в гл. 11, 12.

У делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* (Taphrynomycetes), латеральное спаривание гомологичных хромосом совершается «пунктирно» по их длине за счёт множественных событий рекомбинации, без синаптонемных комплексов, но со вспомогательным участием продольных (вдоль хромосом) белковых волокон, получивших название линейных элементов.

Более подробное описание консервативных и изменчивых структур и механизмов (событий) мейоза мы приводим в соответствующих главах.

Консерватизм основной схемы мейоза среди эукариот определяется высокой степенью гомологии генов, управляющих этим делением. Во время мейоза экспрессируются общие (для митоза и мейоза) гены клеточного деления и гены, специфичные для мейоза. Первое, что должно произойти, чтобы в клетке начался мейоз, — это «отказ» клетки делиться путем митоза. Затем возникает обязательство делиться путём мейоза: происходит необратимое программирование, побуждение (commitment) к делению путем мейоза. Иными словами, происходят существенные изменения в активности генома: инактивируются одни гены и активируются другие. Происходят и существенные изменения в структуре хромосом. В хромосомах появляются новые, специфичные для мейоза белки, и они изменяют свойства хромосом, их маневры и поведение в мейозе. Можно добавить, что так называемый ахроматический аппарат клеточного деления в мейозе (веретено клеточного деления и принцип его работы), за редкими исключениями, 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. Более подробно эти явления будут описаны в том хронологическом порядке, как они идут в ходе мейоза.

## Биологический материал для изучения мейоза

Исторически изучение мейоза началось с морфологических картин, красиво выглядящих под световым микроскопом и легко доступных исследователям, особенно на удобных объектах. Удобен для исследования под микроскопом мейоз в семенниках насекомых — прямокрылых, жуков и других, — а также мейоз в пыльниках растений, особенно у кукурузы, ржи, лилии, градеканции с их крупными хромосомами.

Цитология мейоза изучена у тысяч организмов: одноклеточных и многоклеточных растений, грибов и животных. Однако молекулярная организация, белки хро-

мосом, белки — участники рекомбинации хромосом (ферменты метаболизма, медиаторы или модуляторы событий, происходящих в ходе рекомбинации ДНК) изучены в той или иной степени лишь у ограниченного числа объектов.

До конца 1980-х годов XX века среди объектов-лидеров по степени изученности не только цитологии, но и генетики мейоза были злак кукуруза (*Zea mays*), базидиомицеты рода *Coprinus* и муха *Drosophila melanogaster*. Но в конце 1980-х — начале 1990-х годов молекулярные генетики взяли изучение мейоза в свои руки, и модельные объекты для массового исследования изменились.

К модельным объектам предъявляются определенные требования. Они должны быть удобны для генетического анализа и иметь хорошо изученную генетику. Должны быть описаны фенотипы всех выявленных мутаций и, в первую очередь, мутаций генов метаболизма. А среди них — гены, кодирующие организацию и поведение хромосом, метаболизм ДНК, РНК и структурных белков клетки, начиная с клеточного ядра. В понятие удобства для генетического анализа обязательно входит короткий жизненный цикл организма. У удобных для генетического анализа объектов время жизни одного поколения организмов измеряется немногими днями, как у дрозофилы, или даже часами, как у дрожжей. Это позволяет многократно и быстро повторять эксперименты. С наступлением «постгеномной эры» появилось условие, что геном модельного объекта должен быть в значительной степени или полностью секвенирован. Это позволяет находить и сравнивать гомологичные гены в геномах модельных объектов, не занимаясь кропотливым генетическим анализом. Технологии биоинформатики позволяют находить и сравнивать белки — продукты генов мейоза. Желательно, но не всегда достижимо, иметь у модельного объекта удобные для исследования цитологические картины мейоза и четкую морфологию хромосом. В постгеномную эру это, традиционное для цитологов, правило отходит на дальний план, хотя может вносить неопределенность («приблизительность») в интерпретацию времени наступления того или иного события в ходе мейоза. Однако это преодолимо, ибо создаётся новая шкала времени событий, на которой отмечаются не видимые под микроскопом явления мейоза (его стадии), а события метаболизма ДНК и белков, сопряженные с цитологическими стадиями. Нередко для установления этой сопряженности применяют аналогию со стадиями мейоза у других объектов.

Среди модельных объектов с наиболее изученным мейозом ко второму десятилетию XXI века оказались дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*, нематода *Caenorhabditis elegans*, злак кукуруза (*Zea mays*) и крестоцветное растение *Arabidopsis thaliana*. Весьма изученной в отношении мейоза продолжает быть муха *Drosophila melanogaster*, несмотря на то, что мейоз у неё оказался не типичным по сравнению с другими организмами, как модельными, так и изученными только цитологическими методами. Наконец, исследователи молекулярных механизмов мейоза добрались и до млекопитающих: до неизменной для моделирования организма человека мыши *Mus musculus* (или *M. domesticus*). К моделям с меньшей изученностью генетического контроля и молекулярных механизмов мейоза относятся сумчатые грибы рода *Sordaria*, два вида базидиальных грибов из рода *Coprinus*, рыба *Danio rerio*. Иногда для изучения молекулярных механизмов мейоза привлекаются и другие объекты (даже *Homo sapiens*), но о таких примерах мы будем упоминать специально.

## Глава 2.

# Краткий исторический очерк исследования мейоза

Мейоз был открыт Ван Бенеденом (Van Beneden) в 1884 году (вслед за митозом, открытым двумя годами раньше). Роль мейоза в половом процессе была осознана в те же годы (см. Прокофьева-Бельговская, 1975). Биологи поняли, что чередование двух явлений — мейоза и оплодотворения — в ряду поколений организмов позволяет поддерживать постоянство числа хромосом в поколениях, хотя понятие видового кариотипа было сформулировано гораздо позже, лишь в 20-х годах XX века. Дело в том, что в конце XIX века роль хромосом в наследственности не была ещё общепризнанной. Только после повторного открытия в 1900 г. менделевских законов наследственности возник вопрос о материальных носителях предсказанных Менделем факторов наследственности. Необходимо было решить и доказать, какие клеточные структуры являются носителями менделевских факторов. На основе суммы знаний было понятно, что хромосомы должны играть ключевую роль в наследовании признаков, но это нужно было доказать. Такая задача была поставлена главой крупной цитологической школы в США Эдмундом Вильсоном. В результате были получены достаточные доказательства того, что основные закономерности наследственности в ряду поколений организмов определяются поведением хромосом в мейозе и при оплодотворении. Это было написано в 1902 г. и в более полном виде — в 1903 г. учеником Вильсона Сэттоном (W. Sutton) и вошло в историю науки под названием Первой хромосомной теории наследственности или Хромосомной теории Сэттона-Бовери. Бовери (T. Boveri) в конце XIX в. пришел к выводу об индивидуальном вкладе в наследственность каждой хромосомы, а Сэттон, изучив мейоз у прямокрылых насекомых, написал, что закономерности наследования хромосом в мейозе и при оплодотворении в точности соответствуют закономерностям наследования «менделевских факторов наследственности» (термин «ген» предложен позже Иогансенем), и именно хромосомы с помощью мейоза и оплодотворения передают потомству эти наследственные факторы.

Одновременно с этими публикациями появилась гипотеза МакКланга (McClung, 1901–1902) о том, что, коль скоро хромосомы ответственны за наследование признаков, то X-хромосома у насекомых, имеющих одиночную X-хромосому у половины особей в потомстве, ответственна за мужской пол. Гипотеза была доказана позднее (Boveri, Gulick, 1910).

Через 10 лет после появления хромосомной теории Сэттона и Бовери Т. Морган и его ученики дополнили эту теорию прямыми доказательствами локализации генов в хромосомах: открытием генов, «сцепленных с полом», прямым экспериментальным доказательством хромосомного определения пола и существования «групп сцепления генов», затем открытием явления кроссинговера и линейного расположения генов в хромосомах и, в результате, созданием генетических карт хромосом. Эта теория вошла в науку под их именем как Хромосомная теория наследственно-

сти. Позднее Томас Морган был удостоен Нобелевской премии (1933 г.) за доказательство этой теории. В начале 1920-х годов ученик Моргана Кэлвин Бриджес (C. Bridges) доказал, что известные тогда отклонения от закономерностей наследования пола у дрозофилы объясняются аномалиями мейоза, а именно, случайным нерасхождением X-хромосом.

В 1929 г. немецкий (позднее американский) генетик Курт Штерн (C. Stern), а также американская студентка Крейтон (H. Creighton) и её научный руководитель Мак-Клинток (B. McClintock) доказали, что при кроссинговере в ходе мейоза действительно происходит физический обмен сегментами хромосом. В 1928–1934 гг. Мак-Клинток была первым исследователем, кто соединил генетику растений с цитологией мейоза. В экспериментах с растениями кукурузы, гетерозиготными по делециям, инверсиям и транслокациям хромосом, она доказала, что тесный синапсис гомологичных хромосом в профазе I мейоза у кукурузы зависит от точности совпадения цитологического рисунка хромомера, несущих гомологичные гены. При несопадении морфологического паттерна хромосом возникает асинапсис. Конфигурации синапсиса пахитенных хромосом, наблюдаемые ныне в мейозе у всех организмов, в том числе и у человека, при гетерозиготных перестройках хромосом (делеционные и инверсионные петли и транслокационные кресты) были описаны и расшифрованы ею в этих экспериментах на кукурузе, был также разработан метод «пахитенного анализа» хромосом.

Наиболее цельное и логичное описание основных закономерностей мейоза было сделано в 1930-х годах Дарлингтоном (Darlington, 1937). Описывая тот период истории исследований мейоза, лидер школы российских цитогенетиков середины XX века А.А. Прокофьева-Бельговская (1975) писала: «Научное значение идей Дарлингтона было огромно. Он определил направление дальнейших исследований мейоза у животных и растений; многие непонятные явления в мейозе у полиплоидов и структурных гибридов, межвидовых и межродовых гибридов нашли в свете идей Дарлингтона простое объяснение. Исследования мейоза вышли из тупика, в котором они оказались в конце 20-х годов, и стали развиваться на новой основе». Этому способствовало открытие специфических генов, управляющих мейозом у дрозофилы (Gowen, Gowen, 1922) и кукурузы (Beadle, 1930). Стало ясно, что мейоз, кроме общих с митозом генов клеточного деления, управляется собственной системой мейоз-специфичных генов.

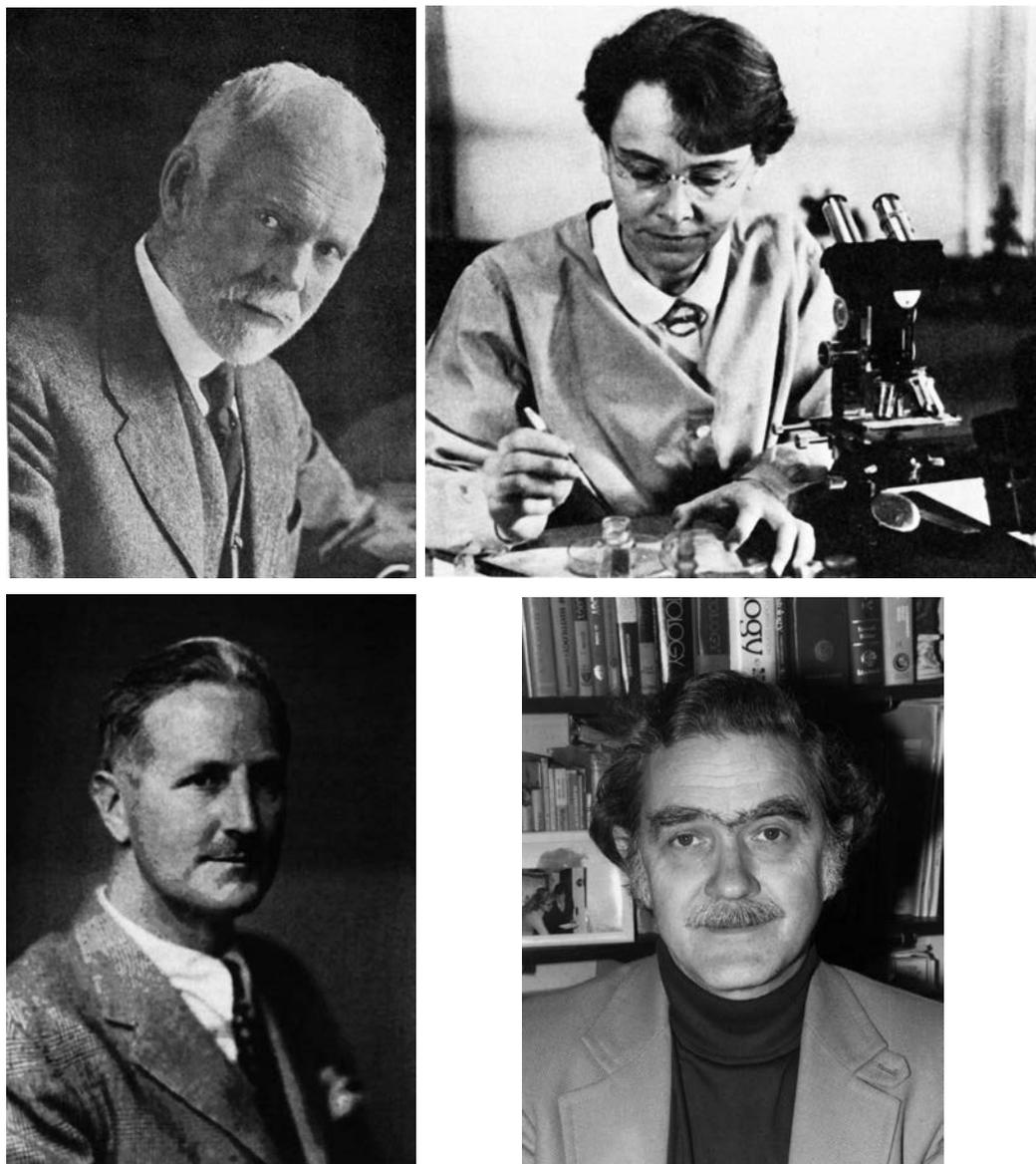
1930–1950-е годы были периодом продуктивных исследований цитологии и цитогенетических закономерностей мейоза. Очень важно следующее: было установлено, что при каждом из двух делений мейоза происходит уменьшение количества ДНК в ядре в два раза, а количество ДНК на гаплоидный набор хромосом остаётся постоянным (Mirsky, Ris, 1949, 1951; Vandrey, Vandrey, 1948). Тем самым было подтверждено, что ДНК может быть химическим веществом наследственности. Имеется в виду, что несколькими годами ранее было установлено: ДНК бактерий является носителем их видовых признаков, ибо приводит к генетической трансформации пневмококков. Мы излагаем эту историю по материалам классических сводок о мейозе (Swanson, 1960; Rhoades, 1961; John, 1990).

Новая для XX века техника цитологии — электронная микроскопия — позволила открыть ультраструктурные механизмы мейотического спаривания и тесного

попарного синапсиса хромосом: образование синаптонемных комплексов (Moses, 1956; Fawcett, 1956). Затем Мозес (рис. 2.1) упростил технику исследования синаптонемных комплексов и доказал, что тотальные препараты этих комплексов, выделенные из аккуратно разрушенных живых мейотических клеток, можно использовать для кариотипирования этих клеток и для изучения перестроек хромосом вместо так называемых «давленных» препаратов метафазных хромосом. Он создал новое направление исследований — цитогенетику, основанную на использовании синаптонемных комплексов вместо хромосом и в дополнение к так называемому «пахитенному анализу» мейоза и вместо него (Moses, 1977). Важным обстоятельством для понимания причин расхождения (сегрегации) гомологичных хромосом в ходе мейоза стало осознание факта, что одного лишь попарного соединения гомологов в профазе первого деления мейоза недостаточно для их попарного построения на экваторе веретена этого деления. Для этого нужно, чтобы в каждой паре хромосом (биваленте) сформировалась хотя бы одна хиазма, а причиной хиазмы является кроссинговер. Популярные в 1930–1950-е гг. дискуссии на тему, что возникает раньше, кроссинговер или хиазмы, были схоластическими до тех пор, пока биохимики, ставшие молекулярными биологами (после открытия в 1953 году генетической роли ДНК), не занялись исследованием роли ДНК в структуре хромосом и молекулярными основами кроссинговера.

Исследование молекулярных механизмов попарного синапсиса и кроссинговера гомологичных хромосом в мейозе началось в США в 1960-е годы Г. Стерном и Я. Хотта (Stern et al., 1975, Hotta, Stern, 1984). Однако более 20 лет их работа шла по ошибочному пути, ибо исследователи полагали, что в основе синапсиса и кроссинговера лежат разрывы одной нуклеотидной цепи ДНК. Ситуация была выправлена в 1980-е годы, когда была сформулирована концепция кроссинговера на основе репарации двунитевых разрывов ДНК: Double strand break recombination hypothesis (Szostak et al., 1983).

Так же как в работах Моргана, добившегося успеха благодаря выбору объекта — дрозофилы, — успех исследователей 1980-х и 1990-х годов пришел в результате использования нового модельного объекта — почкующихся дрожжей *S. cerevisiae*, у которых открыли множество генов, контролирующую споруляцию, кроссинговер и, наконец, процесс собственно мейоза. У этого одноклеточного организма в 1970–1990-е гг. было открыто более 300 генов, специфически регулирующих элементы метаболизма в ходе кроссинговера и мейоза. Одновременно и позже гомологичные им гены мейоза были экспериментально открыты у делящихся дрожжей *S. pombe*, дрозофилы, нематоды *C. elegans*, кукурузы, арабидопсиса и других объектов. Число экспериментально открытых мейоз-специфичных генов у многоклеточных организмов пока измеряется десятками, потому что гены метаболизма многоклеточных организмов изучать экспериментальным путем гораздо более трудоемко, чем у одноклеточных организмов, у которых жизненный цикл измеряется часами, в отличие от дней и месяцев у многоклеточных организмов. В постгеномную эру, в XXI веке, гомологи мей-генов дрожжей выявляются у многоклеточных организмов методами биоинформатики, и их количество постепенно приближается к тому, которое выявлено у дрожжей. Стало ясно, что генетическая система, управляющая метаболизмом процесса мейоза, аналогична у всех эукариот.



**Рис. 2.1.** Выдающиеся исследователи мейоза XX века.

Верхний ряд: Эдмунд Вильсон (E.B. Wilson) и Барбара МакКлинток (B. McClintock).

Нижний ряд: Сирил Дарлингтон (C.D. Darlington) и Монтроз Мозес (M.J. Moses).

Переломным событием в изучении молекулярных механизмов мейоза стала локализация в мейотических клетках, а затем и внутри синаптонемных комплексов белков RAD51 и DMC1 — переносчиков одноцепочечной ДНК в сайте рекомбинации (Bishop, 1994). Это достижение стало возможным благодаря разработке методов иммуноцитохимической детекции белков *in situ*, включающей технику иммунофлуоресцентной микроскопии.

После этого начался бум в экспериментальном исследовании мейоза на молекулярно-генетическом уровне. Число работающих в этой области лабораторий и число публикаций стало столь большим, что с 1995 г. начались регулярные конференции, посвященные исключительно проблемам мейоза. Они продолжают-ся ежегодно уже более двух десятилетий, поочередно в Америке и в Европе. Исследования мейоза в XXI веке ведутся методами современной молекулярной и клеточной биологии, молекулярной генетики и цитогенетики и геномики во всех ведущих в этих науках странах мира.

Современное состояние исследований, открытий и гипотез в области молекулярных и генетических механизмов мейоза можно проследить по цитированию публикаций об этих исследованиях во всех главах данной книги.

## Часть II.

# КОНСЕРВАТИЗМ МЕЙОЗА

### Глава 3.

## Канонический мейоз

В главе описаны превращения, происходящие с хромосомами в ходе двух делений мейоза, видимые с помощью светового и электронного микроскопов. Одновременно сообщается о главных явлениях на молекулярном уровне, которые происходят с хромосомной ДНК при участии белков, специфичных для мейоза. Основное внимание уделено длительной и сложной профазе I мейоза, во время которой происходит кроссинговер и формируются хизмы, необходимые для редукционного расхождения гомологичных хромосом в мейозе I.

Последовательность событий, связанных с преобразованиями хромосом в мейозе, которая характерна для большинства эукариот, мы называем каноническим мейозом. Такой мейоз характерен, в частности, для модельных организмов, упомянутых в главе 2, дрожжей *S. cerevisiae*, растений кукурузы *Z. mays* и резуховидки *A. thaliana*, мыши (и человека). Канонический мейоз наблюдается у подавляющего большинства видов растений и животных, у которых он изучен преимущественно лишь методами цитологии, но при этом недостаточно изучена (или совсем не изучена) генетика этих видов, а их клеточные ядра и хромосомы не исследованы методами молекулярной и клеточной биологии.

В другие главы мы переносим описание архаичного мейоза делящихся дрожжей *S. pombe* (гл. 9) и мейоза у гермафродитной нематоды *C. elegans* (гл. 10), который, хотя и близок к каноническому, но отличается порядком событий в ходе синapsиса гомологичных хромосом и кроссинговера. Отдельно описываем нетипичный мейоз у дрозофилы (гл. 11) и шелкопряда *Bombyx mori* (гл. 12), организмов, имеющих серьезные различия в поведении хромосом в мейозе у двух полов. Кроме того, мы обсуждаем инвертированный мейоз, существующий у ожики *Luzula* и червецов и щитовок (гл. 13), и, наконец, специально остановимся на особенностях женского мейоза — мейоза в созревающих ооцитах животных (гл. 6) и мегаспорах растений (гл. 7).

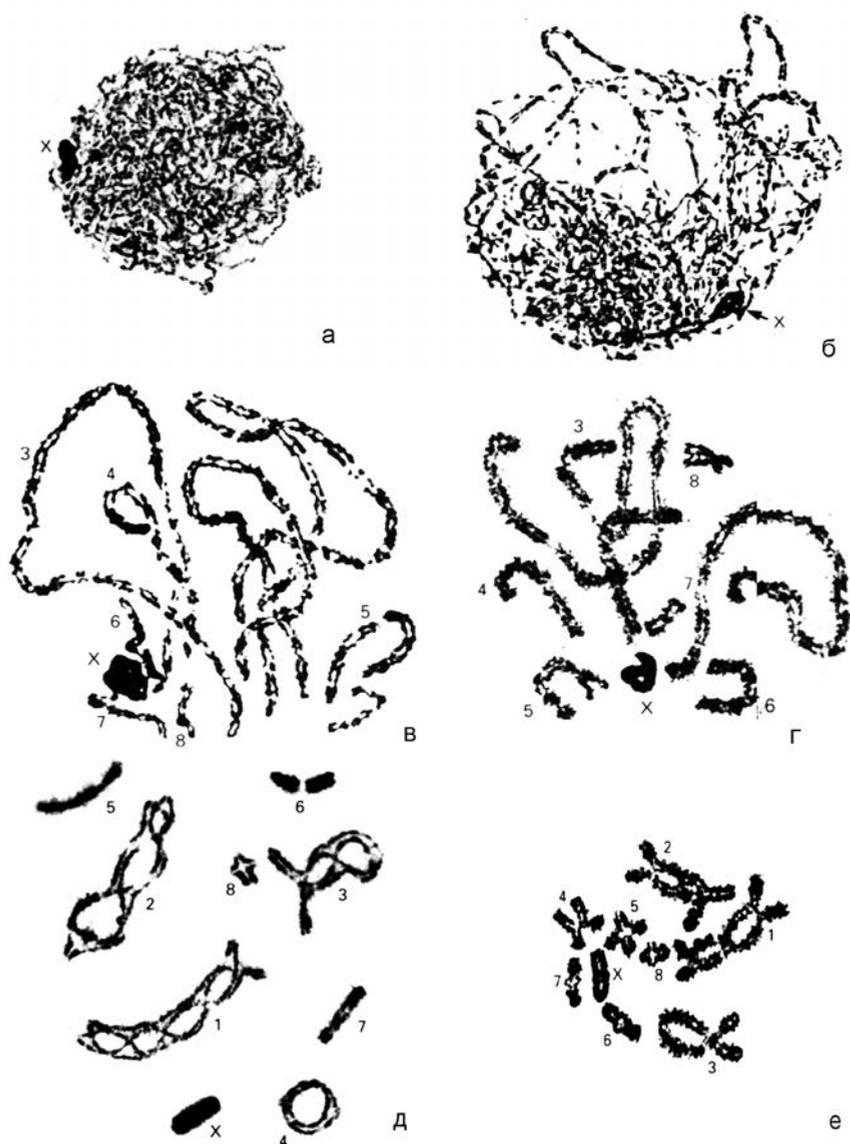
## Хромосомы в премейотической интерфазе и профазе I

**Премейотическая интерфаза.** Перед вступлением в мейоз хромосомы реплицируются в ходе премейотической интерфазы. Продолжительность этой интерфазы существенно превышает длительность интерфазы митотического цикла у тех же организмов. В частности, она длиннее интерфазы митозов в сперматогониях и оогониях у животных и в спорогенных (премейотических) клетках растений (гл. 8). Длительность премейотической интерфазы увеличена за счет периода репликации хромосом (S-периода), Это вызвано тем, что перед мейозом функционирует меньшее число точек инициации репликации, размер репликонов увеличивается, и для полной репликации хромосом требуется больше времени (Liapunova, 1996).

В интерфазе любого клеточного деления, в том числе в премейотической интерфазе, хромосомы сохраняют так называемую конфигурацию Рабля — группировку в виде раскрытого зонтика с центромерами, собранными на «макушке» этого «зонтика», которая направлена на тот полюс клетки, к которому центромеры двигались во время митоза. В такой конфигурации, с центромерами, сгруппированными вблизи внутренней поверхности ядерной оболочки у одного из полюсов, клетки вступают в премейотическую интерфазу. Это справедливо для сперматогониев и оогониев животных, археспорильных клеток растений и грибов.

После репликации ДНК в S-периоде премейотической интерфазы каждая хромосома состоит из двух сестринских хроматид, содержащих по одной молекуле ДНК. В интерфазе любого клеточного деления, в том числе в премейотической интерфазе, пары гомологичных хромосом, согласно некоторым наблюдениям, могут занимать в объеме ядра общую территорию (Zickler, Kleckner, 1998). Это благоприятно для их сближения и последующей конъюгации в профазе I мейоза, однако это нельзя рассматривать как безусловно необходимый фактор для сближения гомологичных хромосом с дальних расстояний и спаривания в профазе I мейоза (Zickler, 2006). Нельзя рассматривать само диплоидное состояние клеточного ядра как фактор, способствующий подготовке к мейозу, ибо существенные события дифференцировки клеток и подготовки их к мейозу у грибов происходят в гаплоидных клетках до образования диплоидной зиготы (Zickler, 1973; Zickler, Kleckner, 1998).

**Профаза I мейоза** подразделяется на субстадии на основе морфологических преобразований хромосом, которые можно наблюдать в световом микроскопе (рис. 3.1). Первая из этих субстадий — *лептотена* (лептонема) — начинается с появления тонких и длинных индивидуальных хромосом. У некоторых объектов они несут мельчайшие хромомеры (например, у насекомых: прямокрылых и сетчатокрылых). Электронная микроскопия позволила выявить внутри лептотенных хромосом тонкие оси (axial cores), они же — осевые элементы хромосом (axial elements, АЕs). Они выявляются путём контрастирования их тяжелыми металлами (осмием, серебром), как это принято для электронной микроскопии. При этом они выявляются как на ультратонких срезах, так и на тотальных распластанных препаратах клеточных ядер. В ранней лептотене осевые элементы могут быть прерывистыми, но к концу этой стадии они становятся непрерывными. По обе стороны от осевого элемента хромосомы располагаются сестринские хромати-



**Рис. 3.1.** Профаза I мейоза в сперматоцитах кузнечика *Chorthippus parallelus*.

Где это возможно, биваленты пронумерованы в порядке убывания их длины. X — унивалентная половая хромосома (X0 — система определения пола). а — лептотена; б — зиготена, группировка теломерных районов хромосом на ядерной оболочке, начало формирования фигуры «букета»; в — ранняя пахитена, «букет» хромосом; г — поздняя пахитена; 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. Из John, 1990, с изменениями.

ды — элементарные фибриллы хроматина, имеющие поперечное сечение около 30 нм и уложенные в структуры высшего порядка — петли и хромомеры.

Оси (осевые элементы) мейотических хромосом состоят из белков, в том числе когезинов, которые в цикле митоза соединяли параллельно лежащие сестринские хроматиды. Во время премейотической интерфазы и профазы I к ним добавляются мейоз-специфичные когезины — REC8 и другие (см. главу 16). Именно вследствие насыщения белками хромосомные оси в ходе лептотены и зиготены мейоза становятся видимыми с помощью электронного микроскопа на ультратонких срезах (обзоры: Богданов, 1975, 2003; Босток, Самнер, 1981; Zickler, Kleckner, 1998; Пенкина и др., 2002) и даже в световом (флуоресцентном) микроскопе, если применяется их окраска флуоресцирующими антителами. По ходу ранней профазы I к когезинам добавляются главные мейоз-специфические белки будущего синаптонемного комплекса хромосом, из которых формируются латеральные элементы синаптонемных комплексов (рис. 3.2, см. также гл. 14).

В ранней лептотене, под действием специфических для мейоза эндонуклеаз (у большинства организмов — SPO11), возникают множественные двунитевые 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 постепенно исчезает **группировка центромер** вблизи внутренней стороны ядерной оболочки (конфигурация Рабля) и возникает новое расположение, характерное для профазы I мейоза. Это **группировка теломер** хромосом на внутренней поверхности ядерной оболочки. В результате возникает **фигура «букета»** длинных, слабо конденсированных хромосом, характерная для ранней профазы I мейоза (рис. 3.1 в). Сроки существования «букета» варьируют у разных организмов в пределах стадий лептотены и зиготены (Mikhailova et al., 2001; Scherthan, 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 волокна, имеющие протяженность около 400 нм (Albini, Jones, 1987; Tesse et al., 2003). Эти мостики, вероятно, возникают в тех сайтах хромосом, где появились двунитевые разрывы ДНК (Franklin et al., 1999; Tarsounas et al., 1999; Hunter, 2003). Малая часть этих лептотенных мостиков превращается в контакты, названные некоторыми исследователями ассоциациями осевых элементов (АОЭ) (Rockmill et al., 1995; Kleckner, 2006).

**Субстадия зиготены.** Упомянутые выше АОЭ превращаются в точки инициации формирования синаптонемных комплексов (СК). Это происходит так. Осевые элементы гомологичных хромосом, соединившись попарно, превращаются в два латеральных элемента СК (рис. 3.2 и 3.3). Именно в это время в состав осевых элементов инкорпорируются главные белки СК: белки Hop1 и Red1 у дрожжей *S. cerevisiae*, белки SCP2, SCP3 — у млекопитающих и ASY1 — у высших растений (см. главу 14).

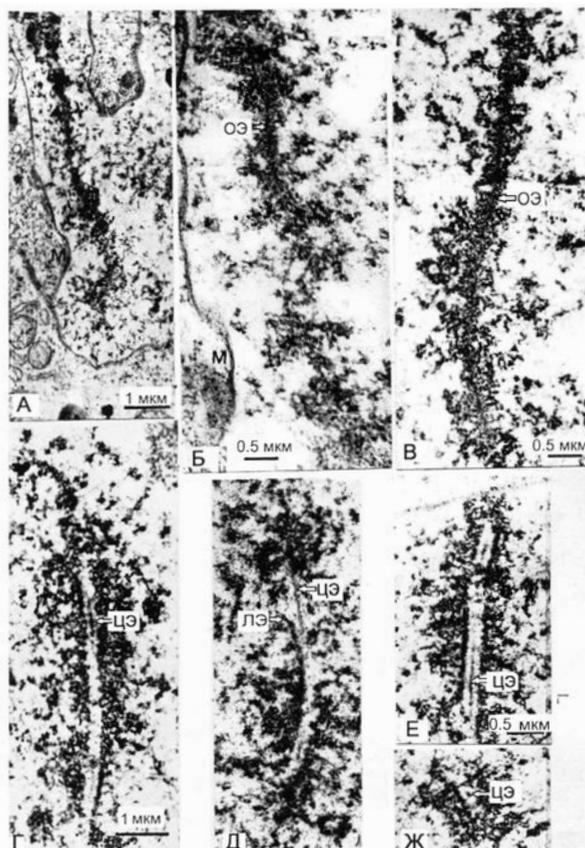


Рис. 3.2. Мейотические хромосомы на ультратонких срезах материнских клеток пыльцы лилии *Lilium candidum* L.

Стадии лептотены (А–В) и зиготены (Г–Ж); Ж — поперечный срез. ОЭ — осевой элемент хромосомы, ЛЭ — латеральный элемент синаптонемного комплекса (СК), ЦЭ — центральный элемент СК, М — ядерная мембрана (по Богданову, 1983 с изменениями).

У большинства животных формирование СК происходит однонаправленно в каждом хромосомном плече: от теломеры к центромере. У растений СК формируется полилокально вдоль пары гомологичных хромосом, при этом локусы инициации формирования СК, как правило, более плотно сгруппированы в субтеломерных районах хромосом.

Формирование СК идет «рука об руку» с процессингом двунитевых разрывов ДНК, в частности, с формированием структур Холлидея (рис. 3.4, см. также главы 4, 10 и 14). В этом процессе участвуют RecA-подобные белки — ферменты RAD51 и DMC1. 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 соавторами (Szostack et al., 1983). Эту схему именуют «моделью репарации двойных разрывов ДНК» (DSBR-model, см. гл. 4). Однако позднее в схему были внесены поправки (Page, Hawley, 2004; Kleckner, 2006, и др.). В частности, установлено важное обстоятельство: ферментативные пути кроссинговера и некроссоверного разъединения локусов хромосом, где образовались двойные соединения Холлидея, расходятся сразу после начала процессинга DSBs на субстадии зиготены (рис. 3.4), а не при освобождении хромосом от двойных структур Холлидея в ходе пахитены, как считалось до 2002 г. (см. также главу 4).

На рис. 3.4 схематически сопоставлены во времени события, происходящие с рекомбинирующими молекулами ДНК, и цитологические явления, происходящие с хромосомами: их сближение, инициация синапсиса и построение СК. События, происходящие с хромосомами, доступны наблюдению с помощью световых (в том числе флуоресцентных) и электронного микроскопов на тотальных препаратах клеточных ядер. В случае световой микроскопии для выявления белков рекомбинации и их места в хромосомах применяют антитела, меченные флуорохромами. С их помощью было установлено, что ранние белки рекомбинации локализуются в ранних рекомбинационных узелках. Об этом подробнее — в гл. 4.

В ранней и средней зиготене у нескольких объектов, а впервые — в сперматоцитах человека (Holm, Rasmussen, 1978), была обнаружена особенность, заслуживающая внимания. Трехмерная реконструкция серийных ультратонких срезов ядер сперматоцитов позволила доказать, что происходят взаимные захваты одиночных осевых элементов хромосом или целых СК соседним синаптонемным комплексом. Это явление получило название «интерлокинг» от английского interlocking — взаимный захват. Это не зацепы (entangling), а именно взаимные захваты (см. рис.

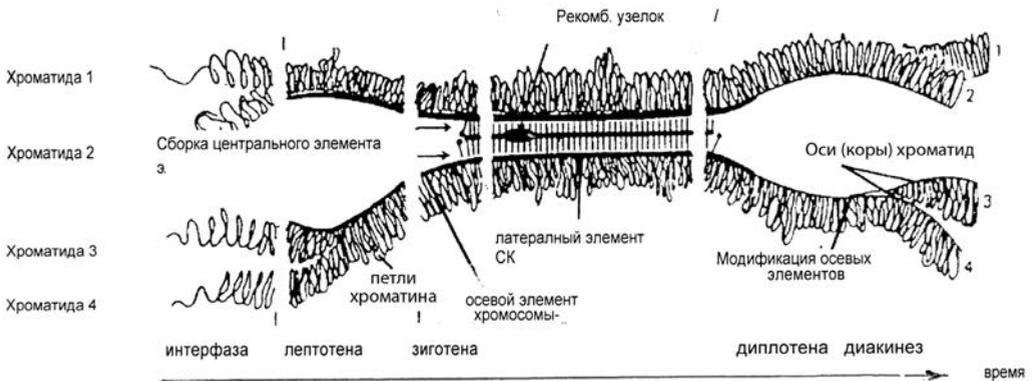
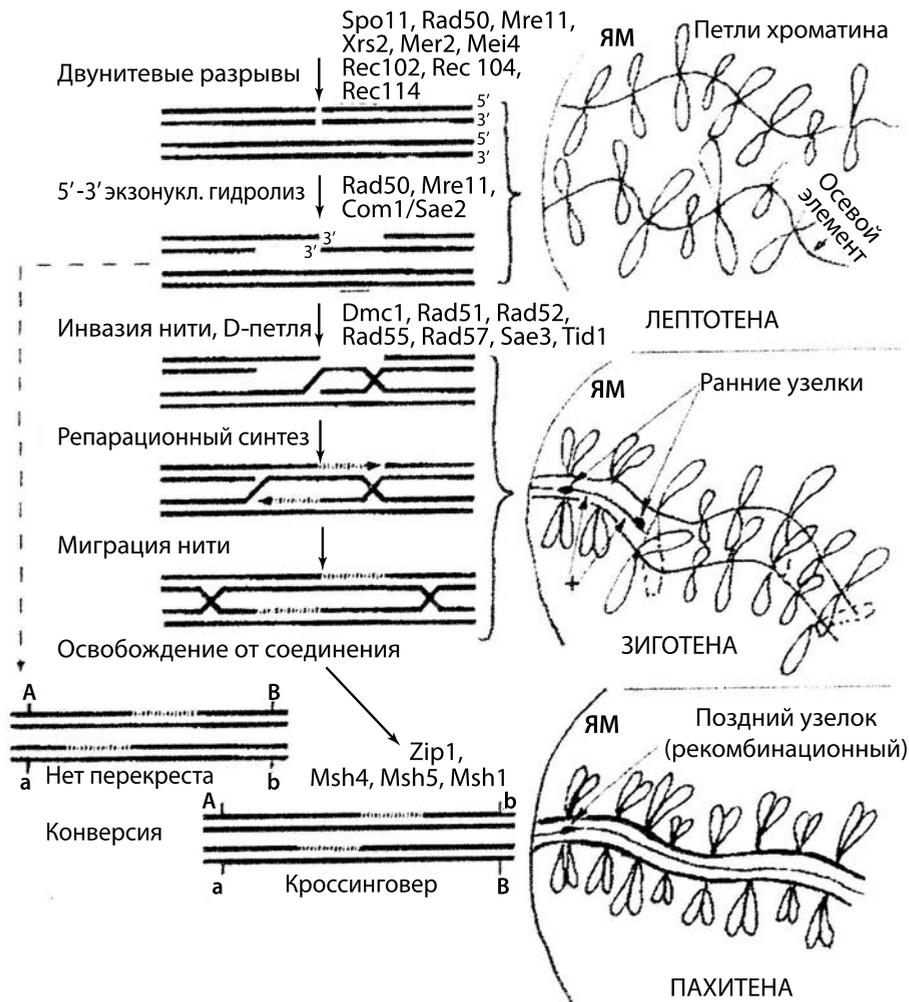


Рис. 3.3. Схема этапов формирования и распада синаптонемного комплекса.



**Рис. 3.4.** Сопоставление этапов рекомбинации молекул ДНК с этапами формирования и функционирования синаптонемных комплексов  
 Указаны белки-промоторы и ферменты рекомбинации, стадии профазы I мейоза и условные зарисовки хромосом и синаптонемного комплекса. Знаком «+» указан центральный элемент синаптонемного комплекса. ЯМ — ядерная мембрана (по: Богданов, 2003).

12.1). Хромосомы и целые профазные биваленты освобождаются от этих захватов путем разрывов и последующих обратных соединений латеральных элементов СК. Такие интерлокинги с последующими разрывами и обратными соединениями (залечиваниями) происходят с частотой одно или малое число событий на клеточ-

ное ядро. Молекулярный механизм разрывов и залечивания остается неизвестным вплоть до второго десятилетия XXI века (Zickler, Kleckner, 2015). К началу субстадии пахитены все интерлокинги исчезают.

**Субстадия пахитены** начинается с того момента, как синапсис хромосом сформировался по всей длине хромосом, а число хромосомных бивалентов совпало с гаплоидным числом хромосом, ибо все хромосомы объединены в пары. На этой стадии под электронным микроскопом видно, что СК построены по всей длине всех бивалентов. Этот признак служит хорошим критерием начала стадии пахитены. Как известно, пахитена — это стадия «толстых нитей» (от греческого *πάχους* — толстый), когда гомологичные хромосомы достигли степени конденсации, максимальной для ранней профазы I. В конце профазы I, на стадии диакинеза, они оказываются ещё более конденсированными, но это уже поздняя профаза.

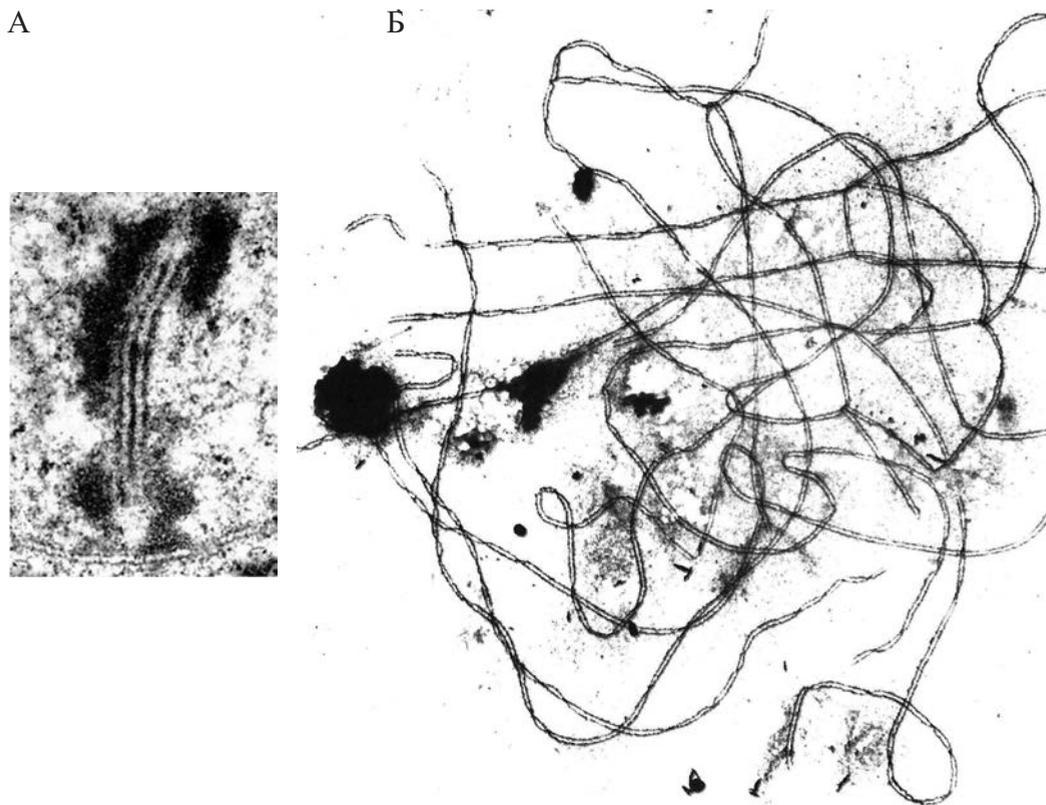
Бивалент на стадии пахитены состоит из двух пар сестринских хроматид (то, что называлось тетрадой хроматид у старых авторов начала XX в.). Сестринские хроматиды (хроматиды одной хромосомы) соединены попарно по всей их длине с помощью белков-когезинов и осевых элементов (о которых мы упоминали при описании стадии лептотены). Эти осевые элементы, включившись в состав СК, начинают называться латеральными элементами СК. Два латеральных элемента соединяются в «конструкцию» СК с помощью поперечных филаментов — белковых мостиков (рис. 3.3 и 14.1). У большинства организмов в пространстве между латеральными элементами (это центральное пространство СК) под электронным микроскопом виден продольный центральный элемент (рис. 3.5). Он параллелен латеральным элементам, и поэтому первоначально вся структура СК сравнивалась с трехполосной (трехчленной) лентой (см. Moses, 1968; 1969; Богданов, 1975).

Во время стадии пахитены происходят заключительные события синапсиса — реализация рекомбинационных событий в виде кроссинговера или некросоверного соединения гомологичных хромосом. Эти события контролируются специальной группой генов (см. главы 4 и 7). 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 эллипсовидные структуры (см. ниже и в главе 4).

В ходе профазы I мейоза в кроссинговер вступают несестринские хроматиды. Это относится к любому индивидуальному локусу хромосомы. В другом локусе той же пары хромосом могут взаимодействовать две другие несестринские хроматиды.

На **субстадии диплотены** СК поэтапно разрушается (см. рис 3.4). Исчезает контакт гомологичных хромосом во всех локусах, кроме тех локусов, где произошел кроссинговер и сформировались хиазмы — физические перекресты несестринских хроматид и обмены сегментами этих гомологичных молекул (Fedotova et al., 1989). Хиазмы становятся хорошо видимыми в микроскоп, когда во всех остальных локусах по длине хромосом, кроме локусов хиазм, гомологичные хромосомы взаимно отталкиваются (см. рис. 3.1).

Подготовка к построению бивалентов хромосом на экваторе веретена клеточного деления носит название субстадии **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, а хромосомы начинают движение для построения на эк-



**Рис. 3.5.** Синаптонемные комплексы у животных и растений. Просвечивающая электронная микроскопия. А — СК в пахитене у аскариды *Ascaris suum*; ультратонкий срез (x 50 000). Фотография Ю.Ф. Богданова. Б — полный набор СК в пахитене у ржи *Secale cereale*. Спред целого ядра. Черное округлое тельце — ядрышко (x 1000). Фотография Ю.С. Федотовой.

ваторе 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; остановка одного из этих процессов приводит к остановке другого и наоборот. Это — общее правило, однако у него есть ограничения. У нематоды *S. elegans* СК начинает строиться до инициации рекомбинации, и нарушение инициации рекомбинации не отменяет строительства СК (см. главу 10).

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. 14 и 16.

Основные явления в поведении хромосом и явления, происходящие на молекулярном уровне, систематизированы в виде таблицы (табл. 3.1).

Таблица 3.1.

Основные события в профазе I мейоза (по Zickler, Kleckner, 2015).

Стадии мейоза	Лептотена	Зиготена	Пахитена	Диплотена
События с хромосомами	Выравнивание и спаривание	Процесс синапсиса в развитии	Полный (совершившийся) синапсис	Видимые хиазмы
Молекулярные явления	1. Новообразованные двуниевые разрывы (DSBs).  2. Мостики между молекулами ДНК в сайтах DSBs	Формирование однонитевого конца ДНК для его инвазии	Инвазия однонитевого конца и двойные соединения Холлидея (dHj)	<b>Кроссинговер</b>
		Или: восстановление двуспиральной ДНК путем матричного синтеза	Бескроссоверное залечивание бреши в двойной спирали ДНК.  <b>Отсутствие кроссинговера</b>	

## 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 митоза уже удвоен, но когезины продолжают «склеивать» два сестринских центромерных района. Когда белок-когезин гидролизует, сцепление СХ исчезает, и микротрубочки веретена делают свою работу, разводя СХ к полюсам (см. рис. 1.1).

В метафазе I-го деления мейоза (мейоз I) когезия СХ тоже существует и даже усиливается за счет мейоз-специфичных когезинов (см. главу 16). Но есть еще два фактора, которые обуславливают специфику метафазы I мейоза. 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. В плечах хромосом когезия хроматид исчезает к началу метафазы I, но в центромерных районах хромосом когезины защищены от гидролиза благодаря ассоциации их со специфическим для мейоза I белком **шугошином** на протяжении метафазы I и анафазы I, и СХ остаются соединенными в центромерных районах (см. главу 16).

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 разойтись к полюсам могут только гомологичные хромосомы, состоящие каждая из двух СХ (см. рис. 1.1, глава 1).

По одной хроматиде из каждой хромосомы претерпевают в результате кроссинговера обмен сегментами. Эти сегменты (черный и белый на рис. 1.1) вследствие кроссинговера оказываются линейно связанными уже не со своими, а с несестринскими центромерами (и кинетохорами), но остаются «склеенными» бок о бок (латерально) с помощью когезинов со своими СХ. Хиазмой является именно эта «конструкция», состоящая из двух кроссоверных несестринских хроматид, каждая из которых остается соединённой бок о бок с сестринской хроматидой (обведено рамкой 2 на рис. 1.1). Особенности этой конструкции объясняются в гл. 4 и на рис. 4.9. 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. Генный контроль этого явления в ходе мейоза детально исследован на примере дрожжей *S. cerevisiae* (Uhlmann et al., 1999; Buonomo et al., 2000) и других организмов.

Попарное построение гомологичных хромосом на экваторе веретена и всё, что сказано выше о хиазмах и шугошинах, блокирующих разделение центромерных районов сестринских хроматид, приводит к тому, что в анафазе I мейоза могут разойтись только гомологичные хромосомы и не могут разойтись сестринские хроматиды.

Анафаза I и телофаза I — быстро проходящие стадии. Поэтому они редко встречаются на микрофотографиях мейоза у животных. Фотографии этих стадий у растений кукурузы приведены в главе 7 (рис. 7.2).

**Генетическая регуляция нерасщепления сестринских хроматид.** На генном уровне «склеенное» состояние (нерасщепление) сестринских центромерных районов в мейозе I 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, и его белковый продукт — белок шугошин — оказывается израсходованным. Поэтому «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 репрессировавшую роль 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* дрозофилы и вообще ни с одним из генов дрозофилы. Таким образом, мы встречаемся с полной аналогией фенотипа («гомологией фенотипа» по Н.И. Вавилову (Вавилов, 1987)) 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 белков, разных по первичной структуре, но имеющих одинаковую внутриклеточную функцию (Богданов, 2004; Bogdanov et al., 2007).

Существенным обстоятельством для понимания редукционного характера мейоза I служит то, что у организмов, пол которых определяется хромосомами X и Y, расхождение этих хромосом совершается в анафазе I. Это служит важным доказательством редукционного характера мейоза I.

## Сегрегация гетероморфных половых хромосом в мейозе I

Это важный раздел цитогенетики мейоза. Именно сегрегация гетероморфных хромосом в мейозе I, например, X и Y у млекопитающих, W и Z в мейозе у бабочек, доказывает редуционный характер первого деления мейоза. У многих видов животных гетероморфные половые хромосомы образуют одну хиазму, которая формируется в так называемом псевдоаутосомном районе Y-хромосомы. Этому предшествует формирование короткого синаптонемного комплекса между X и Y в том же районе. Такая ситуация имеет место в мужском мейозе у человека и в сперматоцитах многих видов млекопитающих. Но есть примеры уникальных гетероморфных половых хромосом у гетерогаметного пола. Например, у одного из видов слепушонок рода *Ellobius* самцы имеют половые хромосомы X и X<sub>1</sub>, различимые только по минорным ультраструктурным признакам при малых увеличениях просвечивающего электронного микроскопа (Kolomiets et al., 1991). У некоторых сумчатых млекопитающих между гетероморфными половыми хромосомами формируется не синаптонемный комплекс, а слоистая пластинка, содержащая один из главных белков синаптонемных комплексов млекопитающих — белок SYCP3. Это, скорее всего, реликтовый случай мейоза (цит. по: Богданов, Коломиец, 2007).

В тех случаях, когда самцы животных имеют формулу половых хромосом XO, одиночная X-хромосома случайным образом попадает в один из двух сперматоцитов второго порядка после анафазы I и телофазы I. Мейоз такого типа характерен для многих видов насекомых (рис. 3.6).

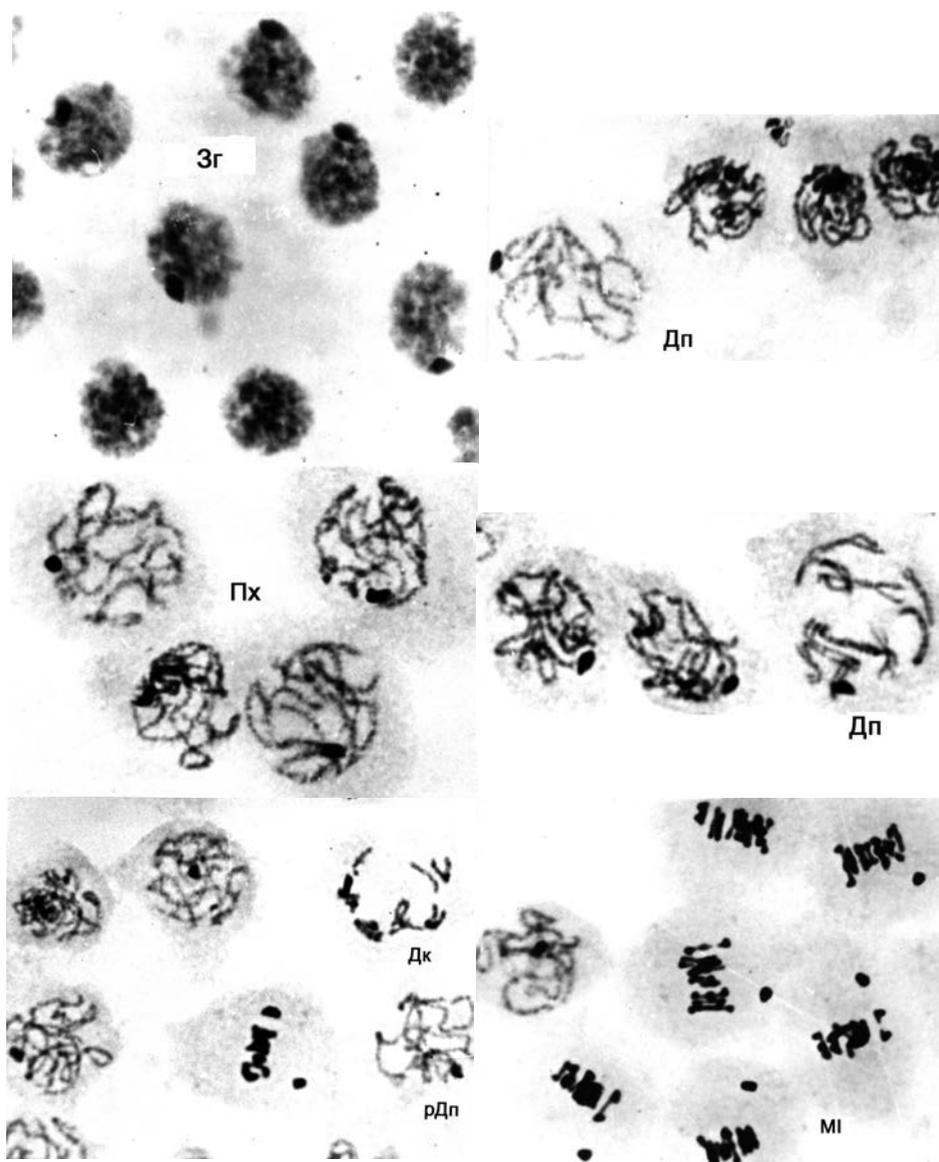
Существуют случаи множественных половых хромосом. Способы сегрегации их в мейозе не всегда и изучены, и понятны. Информация о таких случаях есть, например, в капитальной книге «Meiosis» Бернарда Джона (John, 1990). Не имея возможности дать более полную картину особенностей поведения и судьбы гетероморфных хромосом во время мейоза, мы отсылаем читателей к современным весьма обстоятельным сводкам (обзорам) на эту тему, доступным в Интернете (Guichaoua et al., 2009; Daish, Grützner, 2019).

## Мейоз II

**Разделение аллелей, претерпевших кроссинговер.** Если в хромосомном плече произошел только один кроссинговер, то сегменты сестринских хроматид, расположенные дистальнее точки кроссоверного обмена (дальше от центромеры), содержат разные аллели рекомбинировавших генов. Это служит поводом для некоторых генетиков утверждать, что сегрегация (редукция) хромосом совершается во втором делении мейоза. Однако это справедливо только для сайтов, удалённых от центромеры и претерпевших нечётное число кроссоверных обменов.

Микрофотографии мейоза II у растений, включая анафазу II и телофазу II, показаны на рис. 7.2.

Особенности I и II делений мейоза в ходе оогенеза у животных и мегаспорогенеза у растений описаны в гл. 6 и 7 соответственно.



**Рис. 3.6.** Микрофотографии профазы I и метафазы I у самцов домашнего сверчка *Achaeta domestica*, имеющих половые хромосомы X0. Одиночная X-хромосома во всех клетках видна как плотно конденсированное округлое тельце. 3г — зиготена, Пх — пахитена, рДп — ранняя диплотена, Дп — диплотена, Дк — диакинез, МІ — метафаза I. Оригинал.

## Заключение

Резюмировать различия поведения хромосом в мейозе и митозе можно следующим образом. **В мейозе** происходят новые по сравнению с митозом явления, которые управляются специфическими генами мейоза. (1) Гомологичные хромосомы на продолжительное время соединяются попарно с помощью синаптонемных комплексов, и между ними происходит кроссинговер. Кроссинговер приводит к формированию локальных физических связей хромосом — хиазм, связывающих несестринские хроматиды из гомологичных хромосом. (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 с одним полюсом веретена деления) во время метафазы I. (4) В результате явлений, указанных выше, в анафазе 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. Гетероморфные хромосомы одной пары, например, X- и Y-хромосомы или пара хромосом, гетерозиготная по инверсии или транслокации (где одна из гомологичных хромосом могла изменить морфологию), в каноническом мейозе расходятся в ходе его первого деления. Есть неканонические исключения. О них — в главе 13 (Инвертированный мейоз).

Поскольку хроматиды в профазе I мейоза претерпевают 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 «продукту» кроссоверного обмена, то есть сегменту несестринской хроматиды (черные и белые сегменты на рис 4.9а). **Самое точное утверждение о том, какие хроматиды отходят вместе к одному полюсу в мейозе I, можно сформулировать так: в мейозе I к одному полюсу отходят хроматиды с сестринскими центромерами.** Главное условие правильной редукции числа хромосом состоит в том, что во время метафазы I гомологичные хромосомы должны соединяться хотя бы одной хиазмой. Если пара гомологов не имеет ни одной хиазмы, то такие гомологичные хромосомы расходятся в анафазе I случайным образом. Вследствие этого, как показывает практика, неизбежно неравное расхождение гомологов: попадание обоих гомологов в одну дочернюю клетку или потеря хромосом. Такое расхождение ведет к анеуплоидии потомства по данной паре хромосом. Следствием являются врожденные дефекты потомства, а у млекопитающих и человека при анеуплоидии по аутосомам — гибель потомка (за исключением малых аутосом, например, хромосомы 22 человека).

## Глава 4.

# Мейотическая рекомбинация, кроссинговер, хиазмы

Сопряжённые явления репарации и рекомбинации ДНК служили молекулярной основой, на которой в ходе эволюции полового процесса эукариот сформировался универсальный механизм мейоза. В главе изложены результаты исследования путей метаболизма хромосомной ДНК, ведущих от первоначальных явлений на молекулярном уровне к кроссинговеру и образованию хиазм. Кратко изложена история создания теории гомологичной рекомбинации на основе репарации двунитевых разрывов ДНК и экспериментального открытия «стержневого» ZMM-комплекса белков, ответственных за мейотическую рекомбинацию у большинства эукариот. Обращается внимание на известные исключения из этих закономерностей и возможные способы их объяснения. Излагается теория двух типов кроссинговера — подверженного и не подверженного интерференции. Приведены текущие результаты экспериментальных исследований роли мейоз-специфичных белков рекомбинации на всех этапах мейоза. Рассматриваются гипотезы гомеостаза кроссинговера и механизма его интерференции. Рассказывается об открытии рекомбинационных узелков и их связи с сайтами хиазм. Описан принцип ультраструктурной организации хиазм.

Способность молекул ДНК рекомбинировать *in vivo* унаследована эукариотами от прокариот и в ходе эволюции полового процесса стала основой для формирования мейоза. Молекулярная генетика и биохимия мейотической рекомбинации разработаны в результате исследований мейоза у модельных организмов, перечисленных в гл. 2. Обнаружен весьма высокий консерватизм ключевых генов и белков, ответственных за рекомбинацию хромосом в мейозе (Keeney, 2001; Marcon, Moens, 2005; Loidl, 2016). Биоинформатика позволяет распространять обнаруженные закономерности на другие организмы (Богданов и др., 2002б; Bogdanov et al., 2003, 2007).

У всех эукариот существуют мейоз-специфичные гены и белки мейотической рекомбинации (Гришаева, Богданов, 2000, 2018; Богданов, 2003, 2017; Youds, Bolton, 2011; Симановский, Богданов, 2018). Они супрессированы в вегетативных и соматических клетках, делящихся путём митоза, и активны во время мейоза. Переход диплоидных клеток от деления с помощью митоза к делению путем мейоза происходит в результате актов негативной регуляции: гены, инициирующие мейоз, включают генетическую программу митоза, и тогда включается молчавшая ранее генетическая программа мейоза (Keeney, 2001; Turner, 2007; Harigaya, Yamamoto, 2007; Matson et al., 2010). Гены мейотической рекомбинации составляют количественно наибольшую часть мейоз-специфичных генов (Гришаева, Богданов, 2000, 2018; Богданов, 2003, 2017; Симановский, Богданов, 2018).

Мейотическая рекомбинация у всех изученных эукариот начинается с генетически запрограммированных многочисленных двунитевых разрывов ДНК специфичными для мейоза эндонуклеазами, которые кодируются мейоз-специфичными ге-

нами (Schwacha, Kleckner, 1994, 1995; Keeney, 2001). Большая часть двунитевых разрывов репарируется с сохранением исходной последовательности нуклеотидов, меньшая их часть превращается в обмены между сестринскими хроматидами (СХО) или между несестринскими (гомологичными) хроматидами. Процесс обмена с несестринской хроматидой именуется кроссинговером, а возникшая «обменная» структура (результат кроссинговера) — кроссовером. Обмены между любыми хроматидами идут на основе гомологичной рекомбинации, при которой сестринская или несестринская молекула ДНК используется в качестве матрицы для ликвидации разрыва (Youds, Boulton, 2011; Gray, Cohen, 2016).

Выбор между кроссоверным и некроссоверным вариантами репарации осуществляется сразу же в ходе ликвидации предварительно расширенного двунитевого разрыва (Allers, Lichten, 2001; Gray, Cohen, 2016). Это происходит с помощью миграции однонитевого конца разрезанной ДНК в гомологичную молекулу, денатурации двойной спирали в гомологичном сайте реципиентной молекулы ДНК и называется образованием смещающейся петли (D-петли, displacement loop).

В результате кроссинговера образуются обмены между несестринскими хроматидами — хиазмы, которые удерживают гомологичные хромосомы в виде бивалентов. Хиазмы сохраняются в метафазе I мейоза. Это позволяет бивалентам (а не индивидуальным хромосомам) выстроиться на экваторе веретена первого деления мейоза. Поэтому кроссинговер и хиазмы создают возможность для сегрегации гомологичных хромосом в первом делении мейоза и гаплоидизации клеток.

Белки, которые участвуют в мейотической репарации и рекомбинации ДНК, — это ферменты, медиаторы и адаптеры, работающие под контролем мейоз-специфичных генов (Keeney, 2001; Marcon, Moens, 2005; Youds, Boulton, 2011; Zickler, Kleckner, 2015; Gray, Cohen, 2016; Богданов, 2017; Гришаева, Богданов, 2018; Симановский, Богданов, 2018). Данная глава посвящена роли ключевых белков рекомбинации в этом процессе.

## Кроссоверный и некроссоверный пути рекомбинации в мейозе. История исследований

В мейозе, помимо мейотического пути рекомбинации, сохраняется и тот, что был в соматических клетках, делящихся путем митоза. Митотический путь рекомбинации более древний и представляет собой «рекомбинационную» репарацию двунитевых разрывов ДНК. Кавычки введены потому, что при этом не возникает рекомбинации аллелей генов в данной хромосоме: обмен происходит между генетически идентичными сестринскими хроматидами. При таком обмене в митозе нет интерференции (подавления других обменов рядом с уже произошедшим), и сестринские хроматидные обмены (СХО) могут располагаться близко один от другого на хромосоме. В мейозе такие СХО тоже происходят и наблюдаются в первом делении мейоза (наряду с кроссоверами), если ввести меченый тимидин (Taylor et al., 1957) или бромдезоксисуридин в ДНК в S-фазе митотического цикла перед последним премейотическим митозом (Jones, 1984). Когда СХО были впервые обнаружены (Taylor et al., 1957), применялась метка  $^3\text{H}$ -тимидина. В дальнейшем в качестве маркера но-

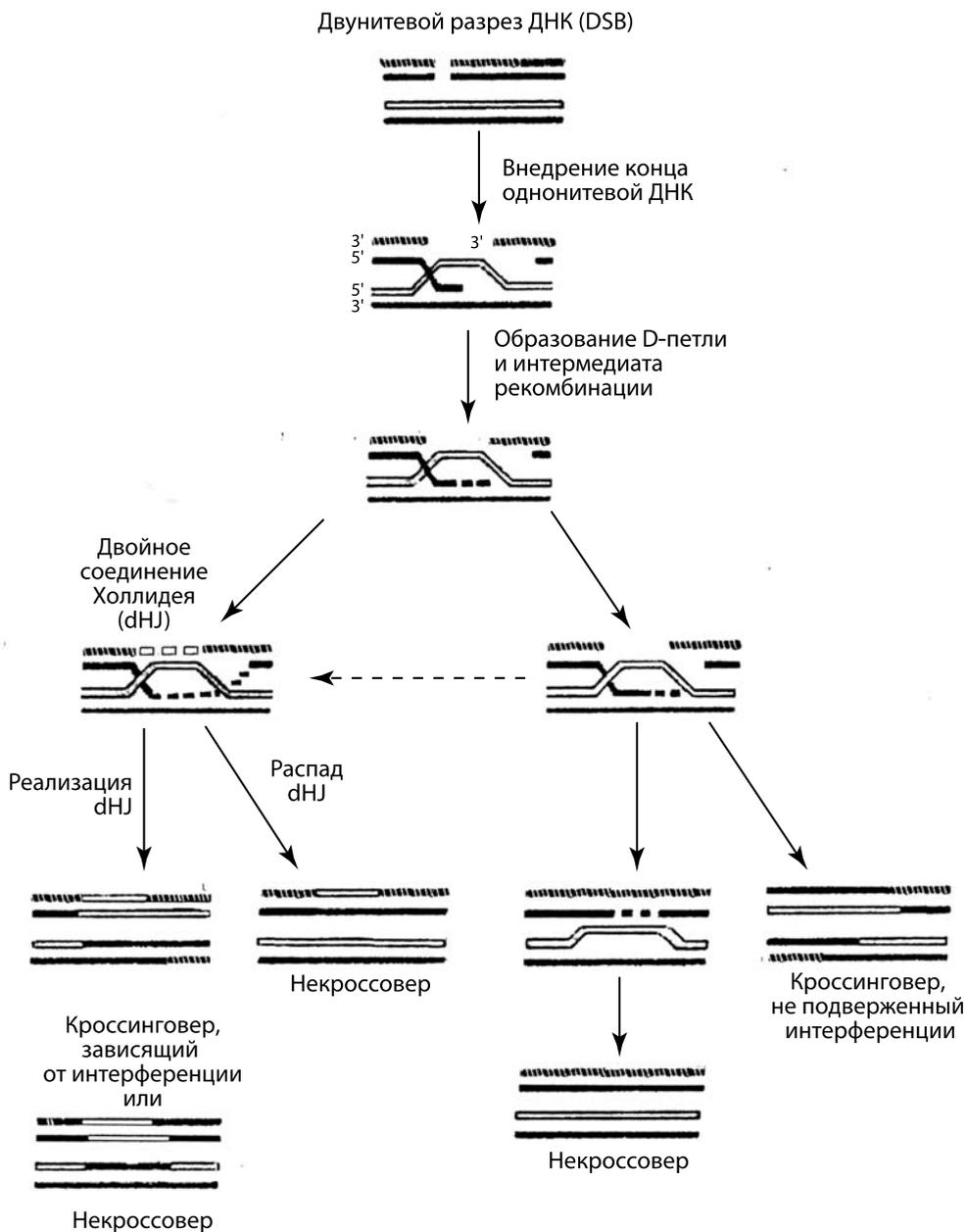
восинтезированной полинуклеотидной цепи ДНК стали применять бромдезоксипридин, BrdU (Zakharov, Egolina, 1972; Perry, Wolff, 1974).

Начиная с 80-х годов XX века, обнаружены многочисленные белки, участвующие в мейотической рекомбинации у разных организмов. Одновременно эти исследования выявили общую схему («сценарий») мейотической рекомбинации у эукариот.

В 1964 г. Холлидей (Holliday, 1964) предложил модель для объяснения того, как рекомбинация может приводить к кроссоверным и некроссоверным явлениям при репарации разрывов ДНК. Он предполагал, что накануне синапсиса гомологичных хромосом происходят разрывы одной из полинуклеотидных нитей ДНК («ники»). Главным звеном в этой модели была промежуточная молекулярная структура, в которой одностранные концы разрезанной ДНК проникают в двунитевую ДНК гомологичной хромосомы, и образуется четырёхнитевый промежуточный продукт. Теперь его называют структурой Холлидея или соединением Холлидея (Holliday junction, Hj).

Холлидей предполагал, что такие соединения расщепляются ферментами репарации ДНК — теперь их называют резолвазами, — в результате чего 4-нитевая структура разделяется на две двунитевые. В зависимости от того, на какой из нитей имел место разрыв, этот процесс (называемый в англоязычной литературе словом «resolution») приводит к кроссоверу (перекресту) или освобождению от связи без перекрёста. Исследования на грибах показали, что кроссоверные и некроссоверные продукты рекомбинации (рекомбинационной репарации) появляются в равных количествах. Модель Холлидея соответствовала этим фактам.

Холлидей предполагал, что рекомбинация должна инициироваться симметричными разрывами (nicks) одной полинуклеотидной цепи на гомологичных хромосомах, но это не совпало с наблюдениями (обзор Stahl, 1994). Для того, чтобы согласовать модель с экспериментальными данными, Шостака и его соавторы (Szostak et al., 1983) предположили, что мейотическая рекомбинация начинается с двойных разрывов на одной хроматиде (молекуле ДНК). В новой модели рекомбинации на основе репарации двойных разрывов ДНК (Double-strand break repair model, DSBR-модель) авторы модели постулировали, что промежуточный продукт рекомбинации содержит два холлидеевских соединения. Это предположение основывалось на обнаружении репарации двойных разрывов ДНК в митотически делящихся клетках. Согласно модели Шостака и соавторов, каждое из двух холлидеевских соединений в промежуточном продукте рекомбинации (предкроссоверном интермедиате) должно реализоваться независимо, но результат должен быть таким же, как в модели Холлидея: кроссоверные и некроссоверные продукты должны появляться в равных количествах. Эта модель получила сильную поддержку в результате физических опытов на промежуточных и окончательных продуктах мейотической рекомбинации у дрожжей *S. cerevisiae*. В этих исследованиях были обнаружены промежуточные продукты рекомбинации — соединённые молекулы (joint molecules) между гомологичными хромосомами (Schwacha, Kleckner, 1994). Эти соединённые молекулы имели много признаков, предсказанных для двойных соединений Холлидея — ключевых промежуточных продуктов новой модели (Schwacha, Kleckner, 1995). Результаты этих исследований получили широкое признание как доказательства существования двойных соединений Холлидея. Термин «соединённые молекулы» (joint molecules) используется для обозначения физических структур, об-



**Рис. 4.1.** Гипотетическая схема путей мейотической репарации и рекомбинации молекул ДНК. Изображены две молекулы ДНК, принадлежащие несестринским хроматидам и участвующие в кроссинговере (по результатам исследования рекомбинации у почкующихся дрожжей *S. cerevisiae*. По: Youds, Boulton, 2011).

наруженных в эксперименте, а «двойные соединения Холлидея» (double Holliday junctions, dHj) — для обозначения промежуточных продуктов, предсказанных моделью. Дальнейшие исследования стали проверкой модели рекомбинации на основе репарации — DSB-модели. Было обнаружено (Allers, Lichten, 2001), что некроссоверы возникают одновременно с соединенными молекулами и раньше, чем появляются кроссоверы. Это было несовместимо с DSB-моделью рекомбинации Шостака и соавторов (Szostak et al., 1983). Для того, чтобы объяснить свою находку, Аллерс и Лихтен (Allers, Lichten, 2001) предположили, что некроссоверы возникают не из двойных соединений Холлидея, а из ранних промежуточных продуктов, которые появляются на том же ферментативном пути, а именно, при смещении растянутой D-петли. D-петля появляется, когда одонитевой конец ДНК проникает в гомологичную двойную спираль, расплавляя её (рис. 4.1). Это происходит потому, что белки RAD51 и DMC1, покрывающие одонитевую ДНК, обладают свойством денатурировать двуспиральную ДНК.

Аллерс и Лихтен предположили, что «некроссоверная резолваза» расширяет D-петлю, и идет синтез ДНК на одонитевом 3'-конце «донорной» молекулы», внедренном в петлю. Затем одна из вновь синтезированных нитей D-петли захватывает надстроенный путем синтеза одонитевой конец двойного разрыва ДНК и образует с ним двуспиральную молекулу (отжиг ДНК). Главным путем образования кроссоверов, по Аллерсу и Лихтену, остается путь выхода из двойных соединений Холлидея с помощью «прокроссоверной» резолвазы, а некроссоверный путь — это путь, на котором антикроссоверная геликаза перехватывает процесс на более ранней стадии, после чего образуются некроссоверы (Allers, Lichten, 2001; Kohl, Sekelsky, 2013). Более детально последовательность этих событий, показанных на рис. 4.1, описана в обзорах XXI века (Youds, Boulton, 2011; Gray, Cohen, 2016).

## Два ферментативных пути кроссинговера

Другой взгляд на проблему выбора между кроссинговером и бескроссоверной репарацией появился в результате изучения ZMM-комплекса белков у *S. cerevisiae*. Эти белки (Zip1-Zip4, Msh4-Msh5, Mer3) последовательно функционируют в местах будущих хиазм. Умеренно консервативные белки Msh4 и Msh5 образуют специфичный для мейоза рекомбинационный комплекс (Pochart et al., 1997). Потеря их у *S. cerevisiae* приводит к снижению частоты кроссинговера на 50–70% (Ross-Macdonald, Roeder, 1994; Hollingsworth et al., 1995). Однако у нематоды *C. elegans* этот комплекс ответственен за 100% кроссинговеров (Zalevsky et al., 1999; Kelly et al., 2000). Для того, чтобы объяснить это различие в регуляции рекомбинации у двух организмов, Залевский и соавторы (Zalevsky et al., 1999; Kohl et al., 2012) предложили гипотезу о двух путях формирования мейотического кроссинговера (табл. 4.1).

Гипотеза двух ферментативных путей помогла объяснить несогласующиеся данные о кроссинговере у других организмов. У дрожжей *S. pombe* нет ортологов белков Msh4-Msh5 (Villeneuve, Hillers, 2001). Вместо этого у них большая часть кроссоверов зависит от резолвазы Mus81-Mms4 (у *S. pombe* и многих других организмов ортолог Mms4 обозначается символом Eme1, однако для простоты мы используем обо-

значение, заимствованное из исследований на *S. cerevisiae*, т.е. Mms4). Такими упрощенными обозначениями пользуются разные авторы (Boddy et al., 2001; Smith et al., 2003). У *S. cerevisiae* от Mms4 зависят 20% кроссоверов (Argueso et al., 2004). Из этих фактов следует, что ферментативный путь, использующий комплекс Mus81-Mms4, является основным ферментативным путем формирования кроссинговера у *S. pombe* и только малой части кроссоверов у *S. cerevisiae*. Возникает вопрос: эти два пути являются вариантами общего ферментативного пути или совершенно разными путями? Известно, что двойные мутации по генам обоих белковых комплексов подавляют кроссинговер гораздо сильнее, чем каждая из мутаций в отдельности, и из этого был сделан вывод, что два пути являются действительно разными путями (de los Santos et al., 2003; Verchowitcz et al., 2007). Эти варианты обозначены в табл. 1 как классы I и II.

Таблица 4.1.

Процент кроссинговера, приписываемый каждому из двух ферментативных путей этого процесса, согласно ранней гипотезе (см. Примечание).

Класс	Тип кроссинговера	Определяющие белки	Процент кроссинговера				
			<i>Sc</i>	<i>Sp</i>	<i>Ce</i>	<i>At</i>	<i>Dm</i>
I	С интерференцией	Msh4-Msh5	50–70	0	100	75–85	0 <sup>1</sup>
II	Без интерференции	Mus81-Mms4	20	100	0	9–12	<10

**Обозначения:** *Sc* — *S. cerevisiae*; *Sp* — *S. pombe*; *Ce* — *C. elegans*; *At* — *A. thaliana*; *Dm* — *D. melanogaster*. По: Zalevsky et al., 1999.

**Примечание.** Более поздние исследования показали, что 90% кроссинговера у *Drosophila melanogaster* требуют функционирования комплекса белков mei-MCM, который, судя по всему, выполняет функцию белков Msh4-Msh5 (Kohl et al., 2012).

Эти факты, по мнению Кол и Секельского (Kohl, Sekelsky, 2013), доказывают, что кроссинговер у *S. pombe*, подробно изученный Мюнцем (Munz, 1994), не интерферирует потому, что он зависит от ферментативного пути белков Mus81-Mms4, а у *C. elegans* подвержен сильной интерференции потому, что он использует ферментативный путь белков MSH4-MSH5 (ZMM-комплекс).

Парадигма двух путей кроссинговера помогает объяснить причину явлений, указанных выше, но, казалось бы, не объясняет два других факта. 1. Почему у мутантов *S. cerevisiae*, у которых потеряны оба класса белков — Mus81-Mms4 и Msh4-Msh5, — всё-таки сохраняется остаточный кроссинговер? 2. Почему у *D. melanogaster* расчёты свидетельствуют о присутствии интерференции, хотя у этого организма нет белков MSH4-MSH5 (Sekelsky et al., 2000). Возникает вопрос: нет ли у дрозофилы третьего пути рекомбинации? Ответы на эти вопросы таковы (Kohl, Sekelsky, 2013). 1. Мутации (если они не делеции) могут не полностью инактивировать белки рекомбинации, и «утечка» не до конца инактивированных белков обеспечивает «следовую» рекомбинацию. 2. Если, как упомянуто в примечании к таблице 4.1, комплекс белков mei-MCM у дрозофилы выполняет функцию белков MSH4-MSH5, то вопрос о том, почему у дрозофилы

есть интерференция кроссинговера, отпадает, ибо интерференция обеспечивается комплексом белков *mei-MCM*.

## Инициация рекомбинации

Иницирующим событием мейотической рекомбинации служит появление мейоз-специфичной двунитевой эндонуклеазы SPO11, ее посадка на ДНК и разрезание двойной спирали ДНК (Keeney et al., 1997; Romanienko, Camerini-Otero, 2000; Grelon et al., 2001). SPO11 — белковый димер, который разрезает молекулу ДНК, как ножницы, но не точно по противоположащим позициям комплементарных нуклеотидов, а со сдвигом на два нуклеотида (Keeney et al., 1997). Нуклеаза SPO11 найдена у большого числа разных организмов (табл. 4.2) и является универсальным инициатором кроссинговера, ибо мутанты, лишенные этого фермента, у нематод, мух, мышей и растений теряют способность к кроссинговеру.

Таблица 4.2.

Число двунитевых разрывов ДНК (DSB), образованных мейоз-специфичной эндонуклеазой SPO11, в ядре мейотической клетки у разных организмов (из Каурпи et al., 2013).

Биологический вид	Размер генома (Mb)	Число бивалентов хромосом (n)	Оценка числа двунитевых разрывов на 1 ядро	Авторы
Гриб <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12	16	140–170	Chen et al., 2008
Растение <i>Arabidopsis thaliana</i>	135	5	~ 230	Vignard et al., 2007
Мышь <i>Mus musculus</i>	2500	19 + XY сперматоцит	200–300	Cole et al., 2012 Plug et al., 1996
Человек <i>Homo sapiens</i>	3000	22 + XY сперматоцит	~ 150	Barlow et al., 1997
Лилия <i>Lilium longiflorum</i>	90000	12	2000	Terasawa et al., 1995

SPO11 является топоизомеразой II и гомологична одной из двух субъединиц топоизомеразы VI архебактерий (архей). Фермент имеет одинаковую аббревиатуру у всех модельных организмов (субъединицы обозначаются  $\alpha$  и  $\beta$ ), кроме дрозофилы, у которой он оказался продуктом ранее открытого гена *mei-W68*. У субъединицы В *A. thaliana* и мыши появились обозначения VTOPVIB и TOPVIBL соответственно (Gray, Cohen, 2016).

Аминокислотный остаток тирозина в каталитическом центре SPO11 ковалентно связывается фосфодиэфирной связью с ДНК. Но, в отличие от топоизомеразы II (известного фермента,

разрезающего обе полинуклеотидные цепи ДНК), SPO11 не служит простым катализатором химической реакции и для активации нуждается в присутствии других (вспомогательных, сателлитных) белков, причём названия таких белков у модельных организмов различаются (Grau, Cohen, 2016). У *S. cerevisiae* известно девять таких белков (указаны на рис. 4.1). Из девяти сателлитов почкующихся дрожжей только Mei4 имеет такую же функцию, как PRD2 у *A. thaliana*. У *S. pombe* — шесть вспомогательных белков. Некоторых из них нет среди упомянутых девяти белков дрожжей *S. cerevisiae*. Названия сателлитных белков особенно отличаются у дрозофилы: например, mei-P22, Trem и Vilya (Liu et al., 2002.; Lake et al., 2015). Это следствие традиционной самодостаточности и обособленности исследователей, изучающих генетику дрозофилы.

По сообщениям исследователей из разных лабораторий, изучавших мейотическую рекомбинацию у разных организмов, количество DSBs зависит от разных факторов: от модификации гистонов, от факторов транскрипции и ремоделирования хроматина и других факторов. У дрожжей *S. cerevisiae*, у которых вообще нет гетерохроматина, мейотические сайты DSBs обладают чувствительностью к микрококковой нуклеазе (MNase) и к ДНКазе I. Это свойство характерно для «открытого» хроматина, не защищенного дополнительными белками (Phadnis et al., 2011). Двунитевые разрывы формируются в районах с низкой плотностью нуклеосом в трёхмерном пространстве фибрилл хроматина, имеющих толщину 30 нм (Mézard et al., 2015). Метилирование гистона H3 (H3K8me2) и ДНК с низким содержанием ГЦ-пар оказывает репрессирующее действие на формирование двунитевых разрывов и кроссоверов в прицентромерном гетерохроматине у растений (Underwood et al., 2018). Для *Tetrahymena* и *C. elegans* таким репрессирующим фактором является триметилирование лизина-23 в гистоне H3 (Parazyun et al., 2014). Метилирование ДНК и лизина-9 гистона H3 достаточно для запрещения мейотической рекомбинации у растений, грибов и млекопитающих (см. Lambing et al., 2019). Наоборот, для формирования DSBs необходимы компоненты хромосомных осей (Hop1 у *S. cerevisiae* и конденсины у нематоды) (Kumar, de Massy, 2010).

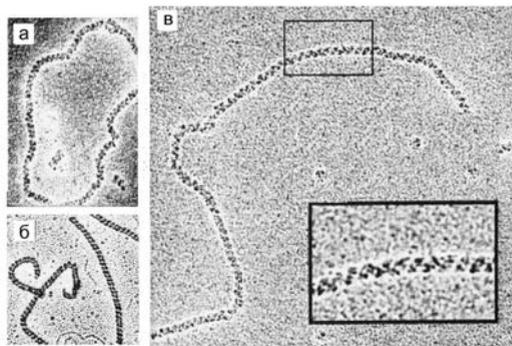
Установлено также, что посадка на ДНК когезина Rec8 регулирует формирование DSBs у *S. cerevisiae*. Рядом с этим когезином редко образуются двунитевые разрывы. Влияют также белок Mer2 и факторы комплекса COMPASS (Székvölgyi et al., 2015). У дрозофилы, у которой формирование синаптонемного комплекса является необходимым (но не единственным) условием образования двунитевых разрывов, отсутствие белков C(3)G и C(2)M значительно снижает количество DSBs (Mehrotra, McKim, 2006). У нематоды в прицентромерном гетерохроматине избыток REC-8 супрессирует мейотические DSBs (так же у *S. cerevisiae* и *S. pombe*, не имеющих гетерохроматина), хотя эндонуклеаза SPO11-1 обнаруживается на хромосомах (Lambing et al., 2019). При этом нормальный уровень REC-8 играет ключевую роль в организации архитектуры мейотической хромосомы и в обеспечении правильного обмена между гомологами. Таким образом, из совокупности этих и других исследований невозможно выявить общую закономерность, общий или ключевой фактор локализации всех DSBs.

Судьба двунитевых разрывов ДНК (будут ли они репарированы без последствий для генома или превратятся в сайты кроссинговера) решается вскоре после расширения бреши в области DSB в направлении от 3'-конца к 5'-концу одиночной нити ДНК (Hunter, Kleckner, 2001; Allers, Lichten, 2001). Это новость XXI века для тех, кто интересуется механизмами мейотической рекомбинации у эукариот, и должно стать изменением в учебном материале по курсу генетики и цитогенетики. Во всех учебни-

ках, выпущенных в XX в., написано, что ключевым событием, которое превращает соединение Холлидея в кроссоверный обмен или в некроссоверный вариант — репарацию или конверсию, — является способ «разрезания» или конформационного «освобождения» (resolution) нитей ДНК от соединения Холлидея. Это происходит якобы в самом конце череды молекулярных процессов, приводящих к кроссинговеру. Однако результаты исследований, опубликованные в первые годы XXI в., доказывают, что «выбор» в пользу кроссинговера или его отсутствия и репарации двунитевой брешы в ДНК совершается в ходе процессинга DSBs и до формирования двойных соединений Холлидея (Allers, Lichten, 2001; Hunter, Kleckner, 2001; Fowler et al., 2013). Молекулярный механизм, который делает этот выбор, продолжает обсуждаться на момент написания этой статьи, но факт раннего «выбора» считается установленным (Börner et al., 2004; Kleckner, 2006; Gray, Cohen, 2016; Youds, Boulton, 2011).

Разрывы двойной спирали ДНК, вызванные эндонуклеазой Spo11, превращаются в брешы размером в сотни пар нуклеотидов. Эти брешы формируются у *S. cerevisiae* под действием экзонуклеазы. Затем одноцепочечный 3'-конец брешы наращивается с помощью фермента RPA (replication protein A) и одевается чехлом из димеров RecA-подобных белков. У эукариот есть два типа RecA-подобных белков: соматический RAD51 и мейоз-специфичный DMC1. Установлено, что они формируют два типа гомодимеров. Согласно модели, предложенной в 2004 г., димеры RAD51-RAD51 и DMC1-DMC1 садятся на разные концы ДНК в районе брешы (Shinohara, Shinohara, 2004). Промоторами взаимодействия RECA-подобных белков с ДНК служат белки, функционирующие в виде комплекса физически связанных между собою (с помощью гидрофобных взаимодействий) белковых молекул. Это комплекс белков RAD51-RAD55-RAD57 (эпистатическая группа RAD52).

Посадка димеров RAD51-RAD51 на одноцепочечный конец ДНК происходит кооперативно (много молекул сразу). Одноцепочечная нить ДНК покрывается сотнями димеров RAD51-RAD51 (West, 2003) на расстоянии в несколько сотен нуклеотидов (рис. 4.2). Димеры DMC1-DMC1, по-видимому, садятся на противоположный конец брешы ДНК (рис. 4.3). Установлено, что комплекс молекул DMC1 — это октамер, который охватывает кольцом однонитевой конец ДНК (Shinohara, Shinohara, 2004).

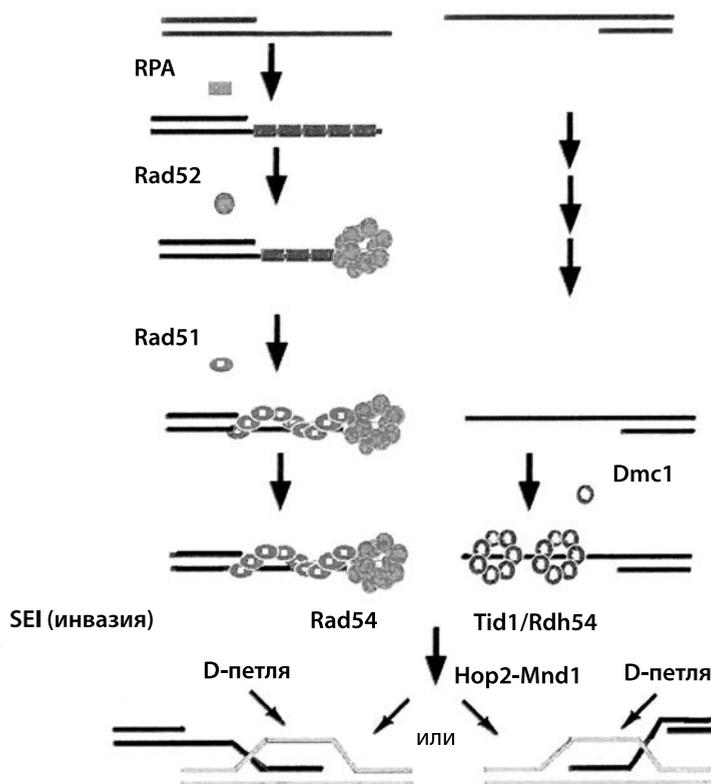


**Рис. 4.2.** Электронно-микроскопические фотографии филаментов однонитевой ДНК, заключённой в чехол из полимеризованных RecA-подобных белков. Для электронной микроскопии препараты напылены металлом. **а** — белок RadA *Arheglobus fulgidus*, **б** — белок RecA бактерии *Escherichia coli*, **в** — белок RAD51 человека. Фотографии А. Стасьяка (A. Stasiak, Университет Лозанны, Швейцария) из статьи West, 2003 с изменениями.

## Инвазия одноцепочечной ДНК и D-петля

ДНК-белковая конструкция, состоящая из отрезанного нуклеазой SPO11 конца одноцепочечной молекулы ДНК и покрывающего её полимера из молекул RAD51 или DMC1, внедряется в гомологичный сайт интактной молекулы ДНК другой хроматиды. Полимеризованные молекулы белка RAD51, как чехол, одевают одноцепочечную ДНК. Такой нуклеопротеид был визуализирован с помощью электронной микроскопии (West, 2003).

Внедрение нуклеопротеидного филамента ДНК-RAD51 (или ДНК-DMC1) может происходить как в сестринскую хроматиду (в той же хромосоме), так и в несестринскую хроматиду (в гомологичную хромосому). При этом реципиентная молекула ДНК локально расплавляется (денатурирует). Это явление получило название инвазии (внедрения) конца одиночной нити (single end invasion, SEI).



**Рис. 4.3.** Участие белков рекомбинации в двух вариантах инвазии одноцепочечного конца ДНК в гомологичную молекулу.

Если инвазия происходит в сестринскую хроматиду, то это начало образования сестринского хроматидного обмена, если в несестринскую — начало рекомбинации. Указаны белки, участвующие в наращивании одноцепочечного конца ДНК (RPA) — Rad51, Dmc1 и другие (из Shinohara, Shinohara, 2004 с изменениями).

В «реципиентной» хроматиде образуется D-петля (от английского displacement loop — петля смещения или смещающаяся петля) (рис. 4.3). Если инвазия происходит в сестринскую хроматиду, то это ведет к сестринскому хроматидному обмену (СХО), если в несестринскую, то это приводит к рекомбинации — кроссинговеру или конверсии (Fowler et al., 2013). После инвазии одиночной нити на обоих концах бреши в молекуле ДНК локально возникают два гетеродуплекса ДНК — двойное соединение Холлидея (double Holliday junction, dHj) (Schwacha, Kleckner, 1995; Hunter, Kleckner, 2001). Эти конфигурации показаны на рис. 4.1.

## Структуры Холлидея

У дрожжей *S. cerevisiae* двунитевые разрывы возникают и существуют на стадии лептотены, до соединения осевых элементов хромосом и формирования из них си-наптонемных комплексов (СК). Внедрившиеся одноцепочечные концы существуют во время стадии зиготены, и считается, что инициация формирования СК у этих дрожжей вызвана именно взаимным притяжением хроматид с помощью инвазии однонитевых концов ДНК в гомологичную хромосому. Двойные структуры Холлидея (интермедиаты рекомбинации) существуют значительное время: с поздней зиготены и до конца весьма продолжительной стадии пахитены.

Есть аргументы в пользу того, что превращение интермедиатов рекомбинации в кроссоверы происходит параллельно с изменениями, происходящими в латеральных элементах СК (Zickler, Kleckner, 2015). Не исключено, что возникновение двунитевых разрывов и их превращение во внедрившиеся концы (SEI) и в двойные структуры Холлидея (dHjs) сопровождаются взаимным захватом разорванных белковых осевых элементов хромосом и затем — соединением этих перекрестившихся концов и образованием перекрестов хромосомных осей (Blat et al., 2002; Kleckner, 2006; Zickler, Kleckner, 2015). По крайней мере, на стадии лептотены под электронным микроскопом можно наблюдать разрывы осевых элементов хромосом (Zickler, Kleckner, 1998). Такие разрывы наблюдались многими, кто исследовал СК под электронным микроскопом, а хромосомные перестройки — транслокации и инверсии — всегда сопровождаются рекомбинацией латеральных элементов СК в точках разрыва и перестройки (Moses, 1977; Богданов, Коломиец, 2007).

В ходе профазы I мейоза у *S. cerevisiae* некроссоверные гетеродуплексы существуют одновременно с соединениями Холлидея (в которых кроссинговер должен происходить позже) (Allers, Lichten, 2001). Этот факт совпал с предположением исследователей о том, что кроссоверы и некроссоверы формируются на общем метаболическом пути. Анализ мутантов по генам комплекса ZMM привел к убеждению, что «решение» в пользу некроссоверного или кроссоверного развития событий происходит рано, а именно, в то время, когда однонитевой конец ДНК внедряется в гомологичную молекулу ДНК и вызывает образование в ней D-петли (Hunter, Kleckner, 2001; Bishop, Zickler, 2004). Эти представления иллюстрируются схемой на рис. 4.1. Именно это и послужило доказательством того, что решение в пользу некроссоверной или кроссоверной репарации мейоз-специфичных

разрывов молекулы ДНК происходит на раннем этапе этой репарации (во время ранней пахитены), а не в конце её (не в диплотене).

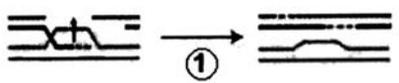
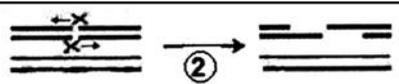
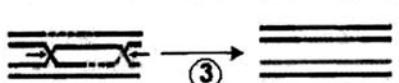
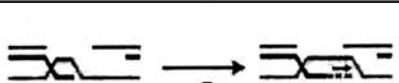
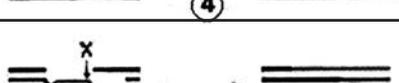
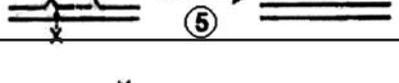
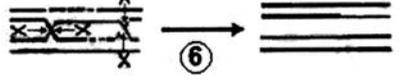
## Комплекс белков ZMM и кроссинговер I типа

Итак, в первом десятилетии XXI века утвердилось мнение, что репарация двуниевых разрывов ДНК может идти сразу же и альтернативно как по пути кроссинговера, так и по пути их залечивания — по некрсоверному пути. Важный аргумент в пользу существования альтернативы состоит в том, что у эукариот есть гены, мутации которых нарушают процесс кроссинговера, но не затрагивают процесс некрсоверной репарации DSBs (обзоры Lynn et al., 2007; Youds, Boulton, 2011). Эти гены известны давно, но в XXI веке именно этот комплекс получил название ZMM-комплекса у дрожжей. Ортологи этих белков есть у других модельных организмов, хотя иногда имеют другие обозначения. В состав ZMM-комплекса входят белок поперечных филаментов CK Zip1, белки Zip2, Zip3 и Zip4 из семейства лигаз SUMO или E3 (Agarwal, Roeder, 2000; Shinohara, Shinohara, 2004; Tsubouchi et al., 2006), геликазы Mer3, расширяющая D-петлю (Hollingsworth et al., 1995), а также белки Msh4 и Msh5, стабилизирующие dHJ (de los Santos et al., 2003).

У большинства изученных организмов в процесс формирования кроссоверов I типа последовательно вовлекаются белки, гомологичные белкам MutS и MutL бактерий. У эукариот белкам MutS гомологичны белки Msh4 и Msh5, которые функционируют в виде гетеродимеров Msh4-Msh5 (рис. 4.4). Иногда такой гетеродимер обозначают как MutSγ (Gray, Cohen, 2016). В ядрах сперматоцитов мышей MutSγ связывается со 100–150 DSBs из примерно 250–300 DSBs, возникающих в ядре во время лептотены-зиготены. Важно, что при мутациях, инактивирующих один из белков гетеродимера Msh4-Msh5, мейоз у самцов мышей блокируется до начала стадии пахитены. MutSγ, по-видимому, стабилизирует все двойные соединения Холлидея (dHJ), а не только те, которые позднее приводят к кроссоверам I класса (Gray, Cohen, 2016). Обнаружено, что гетеродимер Msh4-Msh5 отнюдь не участвует в коррекции неправильно спаренных оснований ДНК, как это делают другие бактериальные белки группы MutS, а лишь стабилизирует dHJs, не давая им подвергнуться действию ферментов, разрушающих ДНК (Hollingsworth et al., 1995; Raquis-Flucklinger et al., 1997; Bocker et al., 1999; Santucci-Darmanin et al., 2000). Гетеродимер Msh4-Msh5, локализующийся на хромосомной оси во время зиготены, рекрутирует в хромосомы гетеродимеры Mlh1-Mlh3 (гомологи бактериальных белков семейства MutL).

Белки MLH1 консервативны в разной степени при сравнении растений, грибов и животных (Гришаева, Богданов, 2017; Grishaeva, Bogdanov, 2018). Длина полипептидной цепи ортологов MLH1 у *S. cerevisiae*, *A. thaliana*, *C. elegans*, *Danio rerio* (рыба), мыши и человека составляет от 723 до 770 аминокислотных остатков (а.к.), у *S. pombe* и *D. melanogaster* — 664–684 а.к. Попарное сравнение взвешенных показателей сходства аминокислотных последовательностей этих белков разными методами (полных белковых молекул или их функциональных доменов), выраженное в % от сходства «сам с собой», показало, что у рыбы, мыши и человека белок MLH1

сходен на 70–87%, а его функциональный домен MutL\_Trans\_MLH1 (от 113 до 128 а.к.) — даже на 85–97%. В то же время у *D. melanogaster* полный белок сходен с его ортологами из других организмов лишь на 30–49%, MLH-1 *C. elegans* сходен с ортологами других организмов не более чем на 27%, а Mlh1 дрожжей *S. pombe* и *S. cerevisiae* (относящихся к разным таксономическим классам) сходны между собой лишь в пределах 20–23% (Гришаева, Богданов, 2017; Grishaeva, Bogdanov, 2018). Таким образом, среди одноклеточных грибов и нематод — современных представителей древних филогенетических линий эукариот — наблюдается большая изменчивость белковой структуры важного фермента рекомбинации. У представите-

Фермент		Действие	Результат
Геликазы	RTEL-1 Mph1		Некроссовер
	Sgs1 Rch1 HIM-6 MUS309 BLM		Про-рекомбинация
			Некроссовер
	MER3		Прокроссовер
Нуклеазы	Mus81 MEI9 (XPF)		Кроссовер
	Yen1/GEN1 SLX4, HIM-18, MUS312, BTBD12		Кроссовер и некроссовер
ДНК-связывающие белки	MLH1/3 MSH4/5		Прокроссовер

**Рис. 4.4.** Участие белков в выборе пути мейотической репарации ДНК между кроссинговером и отсутствием кроссинговера.

1 — смещение нити; 2 — расширение бреши; 3 — ликвидация петли; 4 — расширение гетеродуплекса; 5 — разрезание нитей; 6 — реализация кроссинговера; 7 — остаётся неясным. Надписи «про-рекомбинация» и «прокроссовер» означают, что результаты действия ферментов оказываются в пользу (но не окончательно) рекомбинации и кроссинговера, соответственно. По: Youds, Boulton, 2011 с изменениями.

лей филогенетической линии позвоночных сложилась более консервативная структура белка MLH1, что можно рассматривать как результат «движущего» отбора на молекулярном уровне.

В опытах *in vitro* с гетеродимерами Msh4-Msh5 человека установлено, что они обволакивают «субстрат ДНК, содержащий [многие] dHJ», образуют вокруг молекул ДНК слоистый клубок (sliding clump) и перемещаются вдоль молекулы ДНК с помощью молекулярного механизма, использующего АТФ. При этом перемещении они освобождают место для новых димеров Msh4-Msh5 (Snowden et al., 2004; Gray, Cohen, 2016). В другом исследовании были получены результаты в пользу того, что наилучшим субстратом для функционирования Msh4-Msh5 (MutSy) являются инвазирующие одноцепочечные концы ДНК (SEI) и что функцией этого димера является вовлечение в двойное соединение Холлидея второго конца одноцепочечной ДНК из бреши, возникшей после образования DSB (Manhart, Alani, 2016; Gray, Cohen, 2016). Эти два результата, хотя и различаются относительно места приложения гетеродимера Msh4-Msh5, но совпадают в том, что эти белки функционируют в начальной стадии процесса модификации DSB и в начале событий, приводящих (альтернативно) к репарации или кроссинговеру, а не на заключительных его этапах (освобождения от dHJ).

## Регуляция кроссинговера

Согласно широко распространенному мнению (Youds, Boulton, 2011; Симановский, Богданов, 2018 и др.), существуют три уровня регуляции частоты и распределения кроссоверов: (1) страховка кроссинговера, (2) интерференция кроссинговера и (3) кроссоверный гомеостаз. Страховка кроссинговера обеспечивает каждую пару хромосом хотя бы одним кроссовером (Jones, 1984). Интерференция обеспечивает неслучайное распределение кроссоверов вдоль хромосомы и их расположение на более далёком расстоянии один от другого, чем это ожидается при случайном распределении, если кроссоверов больше одного на пару гомологов (Muller, 1916). Кроссоверный гомеостаз — это способность мейотических клеток сохранять присущий данному биологическому виду (и генетической линии или штамму организмов) уровень числа кроссоверов на хромосому, даже если число DSBs снижается на порядок величин. Пока не ясно, верно ли это правило для всех организмов (см. ниже).

Страховка кроссинговера обеспечивается существованием контрольного пункта (checkpoint), не дающего вступать в метафазу I клеткам, у которых был существенно не завершён синапсис хромосом. Такие клетки подвергаются «аресту» на стадии пахитены (Forejt, 1984; Богданов, Коломиец, 2007). Но если униваленты проходят в метафазу I и образуются анеуплоидные половые клетки, то они не дают потомства в результате отбора на стадии зиготы. Страховка кроссинговера особенно важна для микрохромосом, например, у птиц (Родионов и др., 1992; Родионов, 1996), иначе эти хромосомы, несущие уникальные гены, могли бы иногда теряться.

Интерференция кроссинговера означает, что формирование кроссовера в одном локусе подавляет второй вблизи себя. Поскольку у *C. elegans* и *D. melanogaster* наблюдается всего по одному кроссоверу на хромосому (одна хиазма на пару гомо-

логичных хромосом), то это является примером сильной интерференции. У других организмов обнаружено два типа кроссоверов (см ниже). У *S. cerevisiae* кроссинговер подвержен интерференции, и он управляется белковым комплексом ZMM (Börner et al., 2004; Chen et al., 2008).

Непрерывный СК вдоль хромосомы не является необходимым условием для интерференции кроссинговера у мышей и дрожжей (de Boer, Heyting, 2006; Shinohara et al., 2008). Однако интерференции кроссинговера нет ни у *S. pombe*, ни у *A. nidulans*. Интерференция 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» (то есть, расстояние между соседними сайтами кроссинговера сокращается) в ограниченной области бивалента, вблизи точки разрыва одного из гомологов, претерпевшего инверсию или транслокацию. Это наблюдается именно там, где происходит вызванная перестройкой смена партнеров спаривания и смена латеральных элементов СК (Borodin et al., 1991; Auger, Sheridan, 2001; Torgasheva et al., 2013). Возможно, влияние на интерференцию оказывает именно смена партнеров спаривания, вызванная транслокацией.

Гомеостаз кроссинговера поддерживает число кроссоверов на бивалент хромосом на уровне на два порядка величин ниже числа двойных разрывов ДНК. Особенно интересно и важно, что при снижении (по разным причинам) числа двойных разрывов ДНК число кроссоверов на бивалент сохраняется неизменным, очевидно, за счет уменьшения числа некроссоверов, т.е. репарированных двойных разрывов ДНК. Не исключено, что это не всеобщая закономерность, потому что она доказана пока только на почкующихся дрожжах. В этих экспериментах были использованы гипоморфные аллели эндонуклеазы Spo11, приводящие к разной степени снижения числа двойных разрывов ДНК на клетку. Число начальных событий кроссинговера у мутантов *spo11* снижалось, но, несмотря на это, уровень числа кроссоверов оставался нормальным и неизменным (Martini et al., 2006).

## Генный контроль сопряженных процессов рекомбинации и синапсиса (построения синаптонемного комплекса)

Многие гены, аннотированные как гены мейотической рекомбинации, оказывают значительное влияние на контакт гомологичных хромосом в мейозе, на формирование осевых элементов хромосом и синаптонемных комплексов. У *Coprinus cinereus*, как и у дрожжей *S. cerevisiae*, белок Spo11 катализирует двунитевые разрывы ДНК и инициирует процесс мейотической рекомбинации. У нуль-мутантов *spo11* базидиомицета *Coprinus cinereus* выявлены нарушения формирования осевых элементов хромосом и СК. Нормальные СК обнаружены только в 1% мейоцитов мутантов. Влияние этой мутации на формирование СК может быть обусловлено тем, что мейотические гены *ZIP2* и *ZIP3*, контролирующие начало сборки центрального элемента СК из белка Zip1, являются Spo11-зависимыми генами (Celerin et al., 2000; Henderson, Keeney, 2004; Bhuijan, Schmekel, 2004).

Модель Бёрнера с соавторами (Börner et al., 2004), предложенная на основе выводов из экспериментов многих авторов, постулирует, что ZMM-комплекс способствует превращению DSB в кроссовер. Клетки дрожжей, дефицитные по одному из белков — Zip1, Zip2, Zip3 или Msh5, — не способны к кроссинговеру в условиях повышенной температуры.

Совокупность событий, обычно ведущих к кроссинговеру, происходит на этапе инвазии одноцепочечной ДНК в несестринскую хроматиду. При этом мутации *zip1*, *zip2*, *zip3* и *msh5* не способны ингибировать превращение продуктов репарации DSBs в некроссоверные последовательности, и происходит конверсия гена (Börner et al., 2004). Такая дифференциация может происходить во время возникновения программируемых DSBs, до начала формирования СК. Таким образом, сайты, в которых ZMM-комплекс связан с сайтами инициации синапсиса, могут маркировать те позиции на хромосоме, где DSBs «созревают» в кроссоверы.

Модель функционирования ZMM-комплекса (Börner et al., 2004) объясняет взаимоотношение между тремя явлениями: 1) превращение DSB в кроссовер или конверсионное явление, 2) соединение еще не спаренных осевых элементов хромосом и 3) образование «фокусов», в которых белковый комплекс ZMM ассоциирован с сайтами инициации синапсиса. Именно такая последовательность событий предшествует «созреванию» сайтов кроссинговера и инициации локального формирования СК у дрожжей *S. cerevisiae*. Далее мы попытаемся описать последовательность событий, которая частично доказана, а частично постулируется этой моделью.

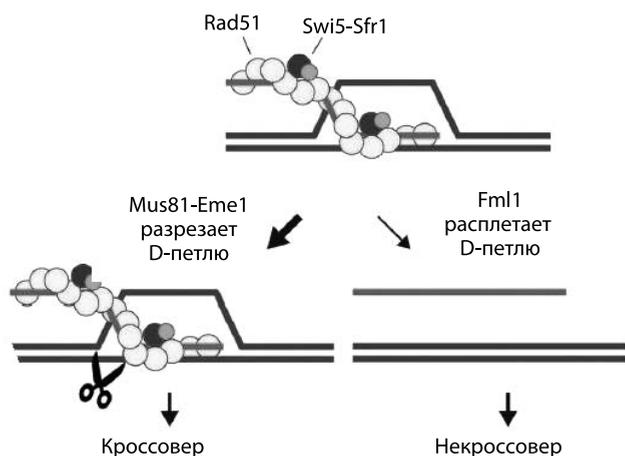
Согласно модели ZMM-комплекса, во время ранней и средней лептотены происходит взаимодействие DSBs с сайтами узнавания (*matching sequences*) на гомологичных хромосомах, и это, возможно, приводит к образованию мостиков между осевыми элементами хромосом (Albini, Jones, 1987; Tessé et al., 2003). Это, возможно, способствует инвазии конца одноцепочечной ДНК в гомологичную хромосому (Franklin et al., 1999; Tarsounas et al., 1999). Мостики, которые соединяют сближившиеся оси хромосом, по-видимому, действительно несут на себе (или включают в себя) одноцепочечные концы ДНК, уже внедрившиеся в хроматиду гомологичной хромосомы (Hunter, Kleckner, 2001). Бёрнер с соавторами предположил, что неизвестный пока механизм вынуждает часть этих мостиков превращаться в истинные кроссоверы с такой частотой и распределением, какие подчиняются закону интерференции кроссинговера (Hunter, Kleckner, 2001). Эти, уже предназначенные быть кроссоверными, концы ДНК взаимодействуют с ZMM-комплексом, в состав которого входит Zip1 — белок поперечных филаментов СК. В результате всего этого происходит явление, которое называют нуклеацией СК: появление (в экспериментальных условиях) первых «фокусов» флуоресцирующих антител к белкам СК, то есть, зарождающихся фрагментов СК. Итак, нуклеация СК у *S. cerevisiae*, по-видимому, совпадает с инвазией нуклеопротеидных комплексов ДНК-Rad51 и ДНК-Dmc1 из одной хромосомы в другую, гомологичную. При этом исследователи обсуждают очень тонкие детали изменения хромосомных осей: их «пристегивание» в местах кроссоверных мостиков и отсутствие таких «застежек» там, где не будет кроссинговера, а произойдет некроссоверная рекомбинация — конверсия (Page, Hawley, 2004; Kleckner, 2006).

Модель Бёрнера и соавторов весьма обоснована сочетанием фактов и перекрестными проверками на материале разных мутантов дрожжей, но она применима только к почкующимся дрожжам *S. cerevisiae* (Börner et al., 2004; Page, Hawley, 2004). Таково мнение исследователей, хорошо знающих детали формирования СК у других организмов. Она не применима к явлениям инициации формирования СК у самок *Drosophila* и у *C. elegans*, у которых для начала формирования СК не нужны DSBs (у этих организмов они появляются только после формирования СК). Модель функционирования ZMM-комплекса не применима и к мейозу у *C. elegans*.

### Подробности «выбора» кроссоверного или некрсоверного пути мейотической рекомбинации

Как уже указывалось, достаточно одного кроссовера на бивалент для того, чтобы обеспечить в мейозе I правильную сегрегацию данной пары хромосом. Избыток кроссоверов (и хиазм) не может дать мейотической клетке преимущество в прохождении через контрольный пункт, пропускающий её в метафазу I. Вероятно, поэтому у большинства организмов наблюдается ограниченное число хиазм в биваленте. Механизм интерференции служит «поставщиком материала» для такого отбора. Это означает, что от 65 до 90% двунитевых разрывов ДНК репарируются без кроссинговера, используя в качестве матрицы гомологичную или сестринскую хроматиду (Lorenz, Whitby, 2012). Молекулярная модель рекомбинации, приводящей к бескроссоверной репарации (Holliday, 1964), постулировала, что для расплетания молекулы ДНК необходима ферментативная активность геликазы. В клетках, делящихся путем митоза, было найдено несколько ДНК-геликаз. Однако долгое время оставалось неясным, какая из них направляет репарацию по некрсоверному пути во время мейоза. Исследования показывали, что эту функцию могут выполнять не все геликазы. Более того, выяснилось, что те геликазы, которые в ходе эволюции были избраны для некрсоверного завершения репарации, оказались разными у разных организмов. Относительно дрожжей *S. cerevisiae* долгое время считалось, что некрсоверную рекомбинацию обеспечивает ДНК-геликаза Sgs1, хотя доказательства были небесспорными. В конце концов, было установлено, что эта геликаза не только обеспечивает некрсоверный путь репарации, но и является основным регулятором всей мейотической рекомбинации, необходимой для предотвращения множественной инвазии одонитевых концов ДНК в сайтах двунитевых разрывов ДНК (Lorenz, Whitby, 2012). Геликаза Sgs1 способствует формированию кроссоверов с помощью ZMM-комплекса ферментов (Zakharyevich et al., 2012; De Muyt et al., 2012). У *C. elegans* в регуляцию кроссоверного пути рекомбинации вовлечена геликаза RTEL-1. Но, по-видимому, она делает это путем предотвращения инвазии одонитевого конца ДНК в гомологичную хромосому, перенаправляя его в сестринскую хроматиду (Youds et al., 2010; Rosu et al., 2011). Иначе говоря, дело не доходит до формирования некрсоверного продукта. Что касается выбора кроссоверного или некрсоверного пути в мейозе у *S. pombe* и *A. thaliana*, то у этих организмов были идентифицированы ортологи геликазы FANCM, которая сдерживает формирование кроссоверов.

*A. thaliana* относится к числу многих организмов, у которых есть два пути мейотической рекомбинации, приводящей к кроссинговеру: 1) путь кроссинговера, подвергающегося интерференции и зависящего от ZMM-комплекса ферментов, и 2) путь кроссинговера, не подверженного интерференции, который, в основном, зависит от ДНК-эндонуклеазы MUS81-EME1/MMS4. Если какие-либо факторы (например, мутации) повреждают или выводят из строя первый путь, то число кроссоверов снижается, но те, которые сохранились, оказываются распределенными случайно и не подверженными интерференции. Это приводит к тому, что некоторые пары гомологичных хромосом остаются без кроссоверных обменов и без хиазм. Мейоз в таких клетках приносит анеуплоидные микроспоры. Это указывает на то, что FANCM направляет те интермедиаты рекомбинации, которые потенциально могли стать кроссоверами, зависимыми от MUS81, на некроссоверный путь или на путь репарации с помощью сестринских хроматид.



**Рис. 4.5.** Модель альтернативного механизма процессинга D-петли в мейозе *S. pombe*. Присутствие Swi5-Sfr1 строго направляет процессинг D-петли по пути разрезания этой петли ферментом Mus81-Eme1 (из Lorenz, Whitby, 2012 с изменениями).

Было неясным, какая из геликаз управляет образованием некроссоверов. Но появилась информация, что разные организмы используют для этой цели разные ферменты (Lorenz, Whitby, 2012).

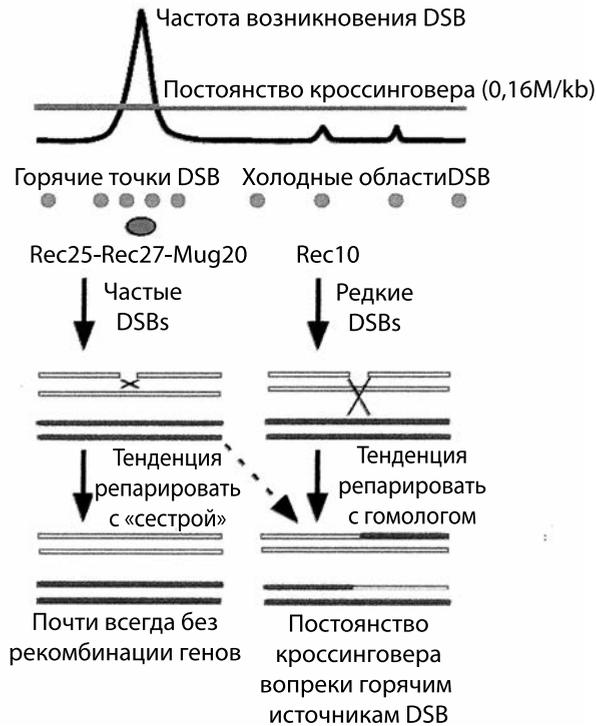
Представление о роли различных геликаз и нуклеаз, участвующих в процессе выбора между кроссоверным или бескроссоверным путями репарации, дает рис. 4.5. Но следует подчеркнуть, что конкретная роль этих белков остается наименее разработанной областью метаболизма ДНК, связанного с рекомбинацией у эукариот, и некоторые оценки носят предварительный характер.

## Горячие и холодные точки двунитевых разрывов ДНК

Число DSBs избыточно по сравнению с числом кроссоверов (Kauppi et al., 2013). Например, у человека примерно 150 DSBs реализуются в виде не более чем 50 кроссоверов на 23 пары хромосом (отношение  $\sim 4:1$ ). У мыши это соотношение составляет примерно  $(200-300):25$ , то есть  $\sim 10:1$ , но у арабидопсиса зарегистрировано примерно 230 DSBs на 5 пар хромосом (и не более чем 10 кроссоверов), то есть может быть от  $\sim 23:1$  до  $45:1$  (Kauppi et al., 2013). Столь большие различия в пропорциях пока не имеют объяснения и означают неполноту изученности этого явления. Различия могут быть обусловлены как методическими причинами, так и существованием модификаторов процессов у разных организмов. Однако общая причина избыточности становится понятной после того, что мы узнали о существовании некроссоверного пути репарации DSBs.

Двунитевые разрывы ДНК распределены по хромосомам неравномерно. Существуют сайты, называемые горячими сайтами разрывов, где их частота повышена, и альтернативные им холодные сайты DSBs. Проблема факторов, детерминирующих расположение горячих и холодных сайтов (точек), исследуется в основном на таких модельных быстро размножающихся организмах, как дрожжи и мыши. Однако универсального фактора не найдено. Для разных организмов описаны разные «мишени» преимущественного «попадания» нуклеазы SPO11.

Установлено, что существуют два пути возникновения горячих точек (ГТ) рекомбинации — зависимый от фактора PRDM9 и независимый. У многоклеточных организмов PRDM9 экспрессируется только в клетках зародышевого пути, а у дрожжей — в фазе «компетентности» для вступления в мейоз (Baudat et al., 2010; Grey et al., 2018). Фермент PRDM9 обладает метилтрансферазной активностью. Кроме того, он имеет домен связывания с другими белками, а также многочисленные домены-«цинковые пальцы», которые связываются с ДНК. PRDM9 садится на определённые последовательности ДНК (причём вследствие сильной изменчивости цинковых пальцев эти последовательности могут быть разными) и осуществляет триметилирование лизина в положениях 4 и 36 в гистоне H3 (H3K4 и H3K36). Этот процесс происходит в нуклеосомах, тесно соседствующих с местом посадки PRDM9. Образуется горячая точка рекомбинации (ГТ). Возможно, в центре ГТ хроматин лишается нуклеосом. Кроме того, для горячих точек рекомбинации характерно присутствие ацетилизованного гистона H3 (H3K9ac у дрожжей *S. pombe* и H3K5ac у нематоды *C. elegans*) (Lambing et al., 2019), а также почти полное отсутствие двух модификаций гистона H3 — H3K27me3 и H3K9me3. Наоборот, у *S. cerevisiae* необходим компонент хромосомных осей Hop1, а у нематоды — конденсины (Kumar, de Massy, 2010). Эти модификации хроматина или какие-то последующие сигналы могут привлекать эндонуклеазу. У человека и мыши PRDM9 контролирует образование большей части ГТ, но не всех. Активность PRDM9 обнаружена также у других млекопитающих и некоторых рыб и рептилий (Baudat et al., 2010; Grey et al., 2018). Количество связанных с ДНК молекул PRDM9 может в несколько раз превышать количество образующихся DSBs. Большинство молекул PRDM9 локализуется в петлях хроматина, а основные компоненты комплекса ферментов, формирующего DSBs (MEI4, REC114 и IHO1), находятся на хромосомных



**Рис. 4.6.** Схематическое изображение различий частоты встречаемости двуниевых разрывов ДНК (DSBs) в горячих и холодных сайтах, экспериментально обнаруженных у дрожжей *S. pombe*, и постоянство частоты кроссинговера (гомеостаз кроссинговера). Указано присутствие белков линейных элементов хромосом Rec25, Rec27, Mug20 и Rec10 и участие сестринских и несестринских хроматид в процессе репарации/рекомбинации. (адаптировано из: Fowler et al., 2013).

осях. Предполагается, что фрагмент латеральной петли фибриллы хроматина с сайтом посадки PRDM9 сближается с осью хромосомы, после чего этот фермент уходит и образуется DSB (Baudat et al., 2010; Grey et al., 2018).

У *S. pombe* двуниевые разрывы ДНК в горячих сайтах репарируются в результате взаимодействия преимущественно сестринских хроматид, в то время как в холодных областях такие разрывы репарируются в первую очередь или исключительно путём взаимодействия с гомологами (Cromie et al., 2007; Fowler et al., 2013). Это удалось установить потому, что в холодных сайтах примерно в 80% случаев репарационные события продуцируют кроссоверы (рис. 4.6).

Авторы этих исследований считают, что выбор партнера для рекомбинации у *S. pombe* может быть следствием присутствия в линейных элементах хромосом этого вида дрожжей белков Rec25, Rec27 и Mug20. Эти белки почти исключительно локализуются в местах двуниевых разрывов ДНК в горячих сайтах. Это опре-

деляет области дифференциальной репарации, потому что не найдено других связанных с хроматином белков, которые отличали бы большинство горячих сайтов от холодных сайтов (рис. 4.6). В пользу этой гипотезы есть результаты экспериментов с мутантами по генам *Rec25*, *Rec27* и *Mug20* (Zalevsky et al., 1999) дрожжей *S. pombe*, но исследования продолжаются на других биологических объектах. Таким образом, складывается представление, что решающую роль в определении точки, где произойдет кроссинговер, играет не просто место посадки SPO11 на ДНК, а то, будет ли сайт посадки SPO11 взаимодействовать с белками, соединяющими сестринские хроматиды, то есть с хромосомной осью. Эти представления совпадают с концепцией, объясняющей роль фактора PRDM9. Мы указывали выше на предположение, что фрагмент петли с сайтом посадки PRDM9 сближается с осью хромосомы, после чего этот фермент уходит и образуется DSB, но хромосомная ось сближает именно сестринские хроматиды, а сближение DSB с сестринской хроматидой ведет к сестринскому хроматидному обмену. Поэтому горячие точки DSBs не имеют преимущества стать горячими районами кроссинговера, и небольшое абсолютное число DSBs в их холодных областях парадоксальным образом может превращаться в относительно высокую частоту реализованного кроссинговера, как это показано на рис. 4.6.

В связи с этим для дальнейших исследований Дадашевым с соавторами (Дадашев и др., 2005) предложена модель участия повторов ДНК-нуклеотидов в топологической организации процесса рекомбинации. Эта модель построена на том, что в главном комплексе гистосовместимости человека обнаружена высокая и высоко достоверная множественная корреляция (с коэффициентом корреляции  $r=0,92$  при  $p<0,001$ ) между топологически связанными явлениями: расположением простых повторов типа  $(GT/CA)_n$  близко от сайтов рекомбинации (и маркирующих эти сайты), локализацией таких повторов в латеральных петлях хроматина пахитенных хромосом и локализацией повторов типа *AhuJb* человека (и родственных им B1-повторов грызунов) в основании петель хроматина на латеральных элементах синаптонемных комплексов. Модель предполагает, что петли хроматина несестринских хроматид, несущие потенциальные сайты рекомбинации, инвагинируют в центральное пространство синаптонемных комплексов и соединяются с рекомбинационными узелками, несущими белки рекомбинации (Дадашев и др., 2005).

Хорошая таблица, содержащая перечень генов рекомбинации и их функции у пяти видов модельных организмов – грибов, растений, беспозвоночных животных — в сравнении с гомологичными генами позвоночных животных, составлена авторами одного из обзоров (Youds, Boulton, 2011) и приводится нами здесь (таблица 4.3).

## Интерференция кроссинговера

Явление интерференции кроссинговера относится к наиболее загадочным и трудным для изучения явлениям, наблюдаемым в мейозе. Существуют механистические гипотезы способа возникновения интерференции. «Гипотеза полимеризации» (King, Mortimer, 1990) постулирует, что первый кроссинговер, возникший в произвольном месте, индуцирует появление вещества, ингибирующего кроссинго-

Таблица 4.3.

Основные гены мейотической рекомбинации у пяти видов модельных организмов в сравнении с гомологичными генами позвоночных животных (по Youds, Boulton, 2011).

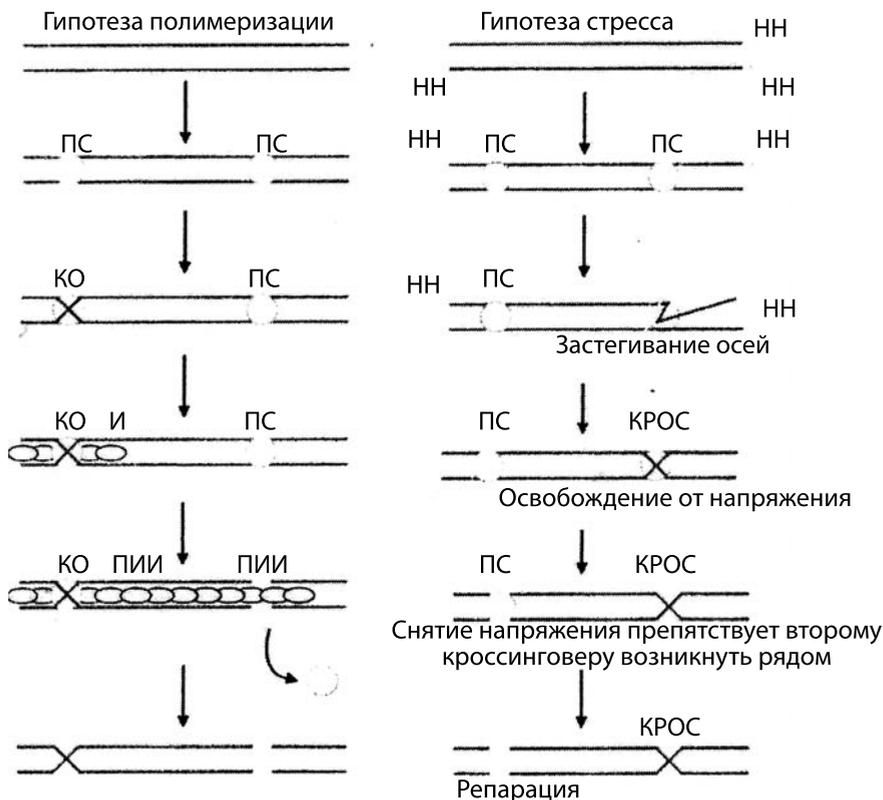
Проявление генов	<i>S. pombe</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. elegans</i>	<i>Drosophila</i>	<i>Arabidopsis</i>	Vertebrata
Про-кроссоверная активность. Ресекция концов DSB	<i>rad32, rad50</i> <i>nbs1</i> (комплекс) <i>ct1P</i> <i>rgh1</i> <i>exo1</i> <i>dna2</i>	<i>mre11, rad50</i> <i>xrs2</i> (комплекс) <i>sae2</i> <i>sgs1</i> <i>exo1</i> <i>dna2</i>	<i>mre-11, rad-50</i> — <i>com-1</i> <i>him-6</i> <i>exo1</i> <i>dna2</i>	<i>mre11, rad50</i> <i>nbs</i> <i>CG58727<sup>a</sup></i> <i>DmBlm</i> <i>tos</i> ?	<i>Atmre11</i> <i>Atrad50</i> , <i>Atnbs1</i> <i>Atgr1/</i> <i>Atcom1</i> <i>Atrecq4a</i> ? ?	<i>MRE11, RAD50</i> , <i>NBS1</i> (комплекс) <i>Ct1P<sup>a</sup></i> <i>BLM</i> <i>EXO1</i> <i>DNA2</i>
Образование промежуточных структур кроссинговера	<i>rhp51</i> <i>dmc1</i> <i>rad22</i> — <i>rad54</i> Отсутствует  <i>mlh1</i>	<i>rad51</i> <i>dmc1</i> <i>rad52</i> <i>mer3</i> <i>rad54</i> <i>msh4, msh5</i>  <i>mlh1</i> <i>mlh3</i>	<i>rad-51</i> Отсутствует <i>brc-2</i>  <i>rad-54</i> <i>msh-4/him-14</i> , <i>msh-5</i> <i>mlh-1</i>	<i>spnB/rad51</i> Отсутствует <i>brca2</i>  <i>rad54</i> Отсутствует  <i>mlh1</i> —	<i>Atrad51</i> <i>Atdmc1</i> <i>Atbrca2</i> <i>Atmer3/rck</i> <i>Atrad54</i> <i>Atmsh4</i> , <i>Atmsh5</i> <i>Atmlh1</i> <i>Atmlh3</i>	<i>RAD51</i> <i>DMC1</i> <i>BRCA2</i>  <i>RAD54</i> <i>MSH4, MSH5</i>  <i>MLH1</i> <i>MLH3</i>
Поддержка кроссинговера между гомологами	<i>hop1</i> <i>rad3</i> <i>rad3</i> <i>mek1</i> <i>rad50</i>	<i>hop1</i> <i>mec1</i> <i>tell</i> <i>mek1</i> <i>rad50</i>	— <i>atl-1</i> <i>atm-1</i> — <i>rad-50</i>	— <i>mei-41</i> <i>atm/tefu<sup>a</sup></i> — <i>rad50</i>	— <i>Atatr</i> <i>Atatm</i> — <i>Atrad50</i>	— <i>ATR</i> <i>ATM</i> — <i>RAD50</i>
Процессинг промежуточных структур кроссинговера	<i>mus81, eme1</i> (комплекс) <i>rad16</i> Отсутствует <i>slx1, slx4</i> (комплекс)	<i>mus81, mms4</i> (комплекс) <i>rad1<sup>b</sup></i> <i>yen1</i> <i>slx1, slx4</i> (комплекс)	<i>mus-81</i> , <i>eme-1</i> (комплекс) <i>him-9</i> <i>gen-1<sup>b</sup></i> <i>slx-1, him18</i> (комплекс)	<i>mus81, mms4</i> (комплекс) <i>mei-9</i> <i>gen1<sup>a</sup></i> <i>slx-1, mus312</i> (комплекс)	<i>At mus81</i> — <i>Atrad1<sup>b</sup></i> ? ?	<i>MUS81, EME1</i> (комплекс) <i>XPF<sup>b</sup></i> <i>GEN1<sup>a</sup></i> <i>SLX1, SLX4</i> (комплекс)
Анти-кроссоверная активность: разединение dHJ, ликвидация D-петли	<i>rgh1</i> Отсутствует	<i>sgs1</i> Отсутствует	<i>hin-6</i> <i>rtel-1</i>	<i>dmBlm<sup>a</sup></i> <i>CG4078<sup>a</sup></i>	<i>Atrecq4a<sup>a</sup></i> ?	<i>BLM<sup>a</sup></i> <i>RTEL1<sup>a</sup></i>

<sup>a</sup>Гомолог, который существует, но его функция в пределах указанной активности ещё не уточнена.

<sup>b</sup>Аннотированный гомолог, однако, не функционирующий в мейозе.

Пояснение аббревиатур названий генов (из оригинальных публикаций): *Atgr1* — у *A. thaliana* ген ответа на  $\gamma$ -радиацию; *tos* — *Drosophila toscana*; *spnB* — гомолог *rad51*; *tefu* — слияние теломер; *mms4* — чувствительность к метилметансульфонату.

вер рядом с ним. Ингибитор распространяется вдоль хромосомы и полимеризуется. Распространение полимера на ближайшие сайты, в которых тоже произошли разрывы ДНК и которые являются потенциальными сайтами кроссинговера, блокирует кроссинговер в этих сайтах, и в них происходит некроссоверная репарация ДНК.



**Рис. 4.7.** Пояснения к гипотезам интерференции кроссинговера.

**Левая часть рисунка** — гипотеза полимеризации. ПС — потенциальные сайты кроссинговера. КО — первый по времени возникновения кроссовер. И — возникновение и начало полимеризации гипотетического ингибитора кроссинговера вблизи первого кроссовера. ПНИ — полимеризация ингибитора вынуждает второй потенциальный сайт репарироваться по некроссоверному пути.

**Правая часть рисунка** — гипотеза механического напряжения (стресса). При конденсации хромосомы в одном из сайтов возникает компрессионное напряжение (НН). Компрессия вызывает «взбухание» в соседнем потенциальном сайте (ПС) кроссинговера, и кроссинговер реализуется (КРОС). После этого наступает релаксация в линейной структуре хромосомы, исчезает напряжение в соседних потенциальных сайтах кроссинговера, и они репарируются по некроссоверному пути. По: Youds, Boulton, 2011, адаптировано.

Гипотеза осталась недоказанной, хотя результаты некоторых экспериментов и наблюдений можно трактовать в её пользу.

Затем появилась гипотеза «напряжения» или «механического стресса», препятствующего второму кроссинговеру вблизи сайта первого (Kleckner et al., 2004; Börner et al., 2004). При переходе от зиготены к пахитене происходит сокращение длины осевых элементов хромосом. Они превращаются в более плотные (чем осевой элемент) латеральные элементы СК. Иными словами, это продольное сжатие осей. Оно приводит к внутреннему напряжению в осях (по предположению авторов гипотезы), и оси «застёгиваются» в области одного из потенциальных сайтов рекомбинации. Застегивание изменяет конфигурацию в интермедиате рекомбинации, и он превращается в кроссовер. Это приводит к снятию напряжения в осях и препятствует повторению ситуации в соседних областях хромосомы и к невозможности использовать внутреннее напряжение в осях в соседних областях, следовательно, к запрету второго кроссинговера в этих областях. Поэтому в соседних потенциальных сайтах рекомбинации интермедиаты ДНК репарируются без кроссинговера (рис. 4.7).

Была предложена и так называемая «счётная» модель интерференции (Berchowitz, Copenhagen, 2010), согласно которой соседние кроссоверные события разделены фиксированным количеством ( $m$ ) некроссоверных событий. Число  $m$  различается у разных видов организмов и у разных полов одного вида и варьирует даже внутри одного организма (между хромосомами). Эта модель хорошо объясняла факты, полученные на дрозофиле и нейроспоре, но совершенно не согласовалась с данными по рекомбинации у дрожжей *S. cerevisiae*. Позже был введён ещё один параметр, а именно — определённое количество не подверженных интерференции кроссоверных событий (Berchowitz, Copenhagen, 2010). В таком модифицированном виде «счётная» модель подходила для объяснения интерференции у дрожжей, арабидопсиса и человека. Недостатком её является отсутствие как доказательств *in vivo*, так и внятного объяснения молекулярного механизма осуществления такой интерференции.

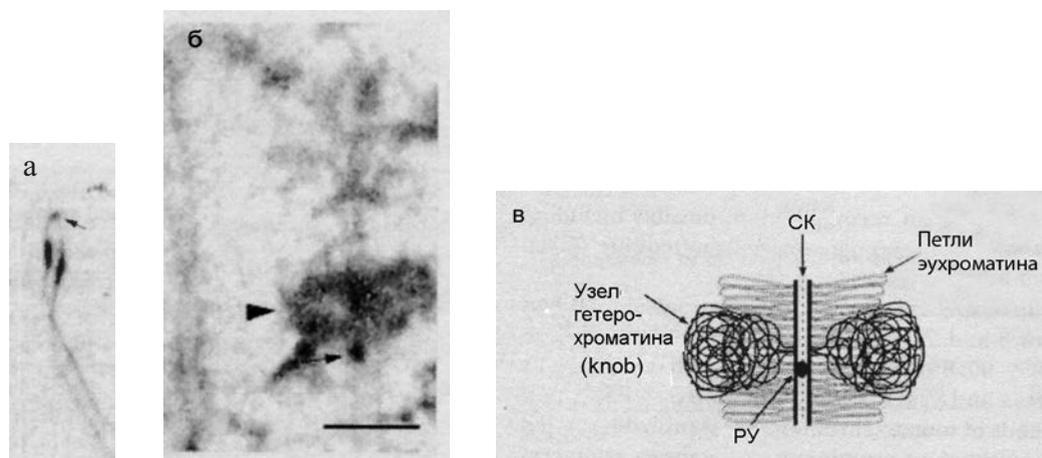
Существуют попытки доказать связь интерференции кроссинговера с морфогенезом хромосомных осей. У почкующихся дрожжей АТФазный контрольный пункт Pch2, действующий на стадии пахитены, проверяет уровень «загрузки» белка Hop1 в хромосомные оси (латеральные элементы СК), и это обеспечивает построение непрерывных осей из предшествующих им фрагментов. Благодаря этому образуется связь белка Hop1 с белком Zip3 в составе СК (Joshi et al., 2009; Herruzo et al., 2016). Авторы публикации этих фактов пытаются привязать их к «модели напряжения». Они предлагают считать, что хромосомные оси несут на себе несколько «модулей» потенциального кроссинговера, и реализация кроссинговера в одном из модулей закрывает возможность реализации в других модулях, если модули физически и линейно связаны между собой непрерывной хромосомной осью. Это, фактически, пересказ «гипотезы напряжения» в других физических образах.

Установлено, что сайты локализации кроссоверной резолвазы MLH1 на пахитенных хромосомах совпадают с локусами хиазм у мыши, маркируют хиазмы и интерферируют так же, как кроссинговер (de Boer, Heyting, 2006). На основе этой закономерности (подтвержденной в разных лабораториях) было установлено, что хромосомные перестройки, нарушающие исходную непрерывность хромосомных осей, приводят к тому, что, например, вместо одного кроссовера в каждой паре хромосом (в диком типе) после транс-

локации возникает второй кроссовер и, соответственно, дополнительный фокус флуоресцентных антител к белку MLH1. Из этого следует, что нарушение исходной целостности белковой оси мейотической хромосомы действительно приводит к потере интерференции. На качественном уровне это можно трактовать как в пользу теории полимеризации, так и в пользу теории напряжения. Ясно одно: интерференция кроссинговера обусловлена непрерывностью физической структуры хромосом, и, по-видимому, важно условие – нарушалась или нет непрерывность этой структуры (Borodin et al., 1991; Goldman, Hulten, 1993; Auger, Sheridan, 2001; Torgasheva et al., 2013).

## Рекомбинационные узелки на синаптонемных комплексах и их роль в кроссинговере

В 1970-е годы при электронно-микроскопических исследованиях СК у разных объектов разными исследователями были обнаружены специфические плотные тельца на центральных элементах СК. Такие тельца были названы узелками (nodules) в отличие от узлов *гетерохроматина* (nodes или knobs) на пахитенных хромосомах у кукурузы и других растений, имевших генетические карты хромосом. У кукурузы, томатов, дроз-



**Рис. 4.8.** Поздние рекомбинационные узелки (РУ) на синаптонемных комплексах (СК) у кукурузы под электронным микроскопом (окраска уранилацетатом и цитратом свинца) **а** — стрелкой указаны РУ вблизи теломеры, ниже видны утолщения на латеральных элементах СК; **б** — РУ (стрелка), расположенный очень близко к кинетохору (головка стрелки); **в** — зарисовка РУ, расположенного близко к гетерохроматиновому утолщению или узлу (knob), типичному для пахитенных хромосом кукурузы. На зарисовке тонкими линиями обозначены небольшие елатеральные петли эухроматина, а гетерохроматический узелок представляет собой одиночные (или немногочисленные) гигантские петли — ДНП-фибриллы гетерохроматина (по Anderson et al., 2003). С разрешения редакции журнала Genetics.

филы и других, удобных и не очень удобных для цитологического исследования, объектов были найдены два типа узелков на СК в мейозе: «ранние» — во время зиготены — и «поздние» — в «зрелой» пахитене (рис. 4.8). Они несколько различаются морфологически (по форме и размеру), причём по-разному у разных организмов. Число ранних узелков на одно мейотическое ядро (на диплоидный набор хромосом) у всех организмов всегда (во всех изученных клетках) превышает число поздних узелков. Очень тщательная и умная исследовательница Аделаида Карпентер первой обратила внимание (Carpenter, 1975b) на то, что у дрозофилы *D. melanogaster* на каждом плече пахитенных бивалентов бывает, как правило, по одному позднему узелку (более точно — 1.1 узелок в среднем на большой выборке случаев), так же, как только по одной хиазме и по одному кроссоверу на плечо (см. главу 11). Карпентер высказала уверенное предположение, что поздние узелки — это скопление «поздних» ферментов рекомбинации, а именно тех, что участвуют в реализации кроссинговера (Carpenter, 1975b). Статистически достоверное совпадение числа поздних узелков в пахитене и хиазм в диплотене было обнаружено в сперматоцитах человека, а также в материнских клетках пыльцы пшеницы (Holm, Rasmussen, 1978; Rasmussen, Holm, 1984; Wettstein, 1984).

Гипотеза о функции рекомбинационных узелков в центральном пространстве СК в качестве ядерного «компартамента» для молекулярных процессов рекомбинации была доказана, когда Бишоп (Bishop, 1994) установил, что ранние мейотические узелки у *S. cerevisiae* содержат белки раннего этапа рекомбинации — Rad51 и Dmc1, а в поздних узелках был обнаружен фермент завершающего этапа кроссинговера — Mlh1 (Andersoh et al., 1999). Те и другие доказательства были получены с помощью флуоресцирующих антител к данным белкам. За узелками, которые видны на СК во время зиготены и ранней пахитены, закрепились названия ранних мейотических или ранних рекомбинационных узелков (early nodules, EN), за поздними узелками (LN), которые видны в поздней пахитене и диплотене, — просто рекомбинационных узелков (recombination nodules, RN), а в русской аббревиатуре — РУ. Более подробная информация о белках, которые входят в состав EN и LN (RN), и об их функции, связанной с кроссинговером, приводится нами в гл. 11, посвящённой мейозу у дрозофилы. Детали морфологии всех типов РУ у разных видов организмов описаны в обзорах (Zickler, Kleckner, 1998, 1999, 2015; Page, Hawley, 2004). Нам следует лишь упомянуть, что размеры РУ у разных организмов варьируют. Длина (если узелки эллипсоидные) может составлять от 50 до 200 нм, а поперечник (диаметр сферических узелков) от 30 до 100 нм. Как правило, эти узелки вписываются в центральное пространство СК. Иногда они могут примыкать к одному из латеральных элементов СК, но нельзя гарантировать, что это не артефакт, возникший до или в ходе процедур фиксации клеток для электронной микроскопии.

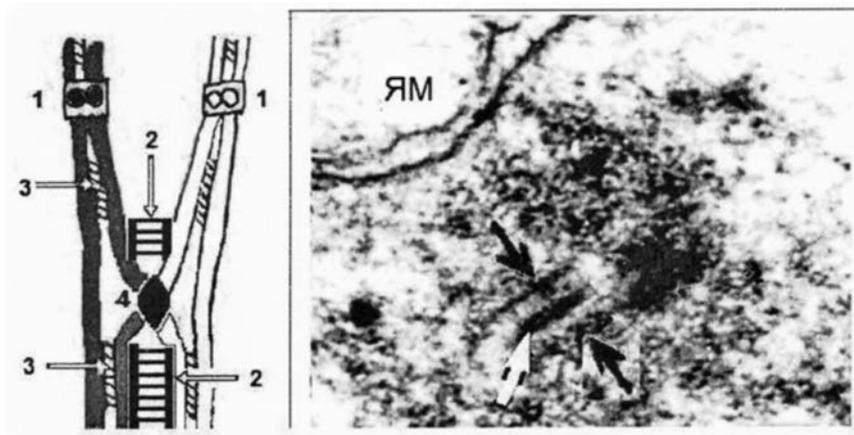
**Структура хиазмы** — это не только физический обмен сегментов двух молекул ДНК. В локусе хиазмы сохраняется фрагмент СК (рис. 4.9), который обеспечивает механическую прочность соединения гомологичных хромосом во время их отталкивания на стадии диплотены, во время их сжатия (конденсации хроматина и «конгрессии хромосом») на стадии диакинеза и даже во время метафазы I (Zickler, Kleckner, 1999; Stack, Anderson, 2001). Хиазмы однажды возникли в ходе эволюции и закрепились в механизме мейоза во всех эволюционных линиях развития эукари-

от. В главах 1 и 2 мы указывали, что именно хиазмы стали важнейшим «инструментом» в механизме, который обеспечивает построение пар гомологичных хромосом на экваторе веретена редукционного деления мейоза. В гл. 17 мы специально обсудим эволюцию мейоза на основе кроссинговера и хиазм.

Схема ультраструктурной организации хиазмы и электронно-микроскопическая фотография остаточного фрагмента СК в области хиазмы приведены на рис. 4.9.

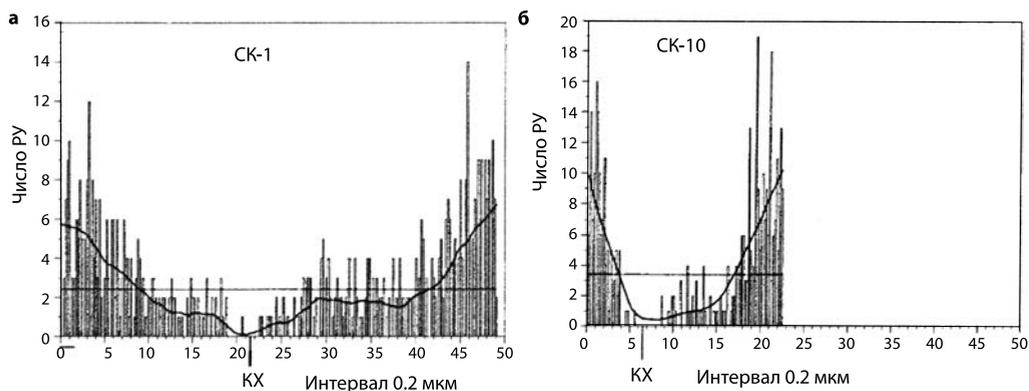
Хиазмы чаще всего локализируются в субтеломерных районах хромосом и реже в околоцентромерных районах. Такая же тенденция наблюдается в отношении поздних рекомбинационных узелков. Эта статистическая закономерность была выявлена в мейозе у многих организмов (Zickler, Klekner, 1999).

Наглядная картина распределения РУ получена при исследовании СК инбредной линии KYS кукурузы *Zea mays* (Anderson et al., 2003). Были изучены электронно-микроскопические фотографии СК 2080 пахитенных хромосом, и на них карти-



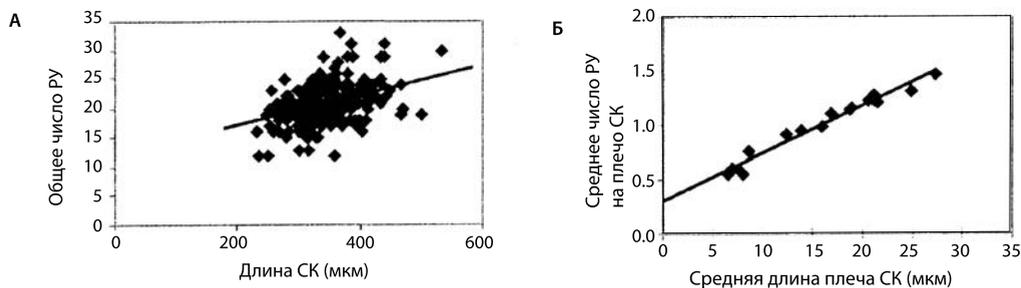
**Рис. 4.9.** Схема структурной организации хиазмы (слева) и остаточный фрагмент синаптонемного комплекса (справа) с рекомбинационным узелком в диплотене у аскариды (ультратонкий срез, электронная микроскопия). По: Kundu, Bogdanov, 1979, с изменениями. На схеме сестринские хроматиды (СХ) одной из двух гомологичных хромосом светлые, другой хромосомы — тёмные. Цифры 1 обозначают сестринские кинетохоры. Стрелками 2 указаны остаточные фрагменты синаптонемного комплекса, сохраняющиеся во время диплотены и диакинеза и физически предохраняющие хиазму при манёврах хромосом во время подготовки к метафазе I. На схеме эти фрагменты СК искусственно раздвинуты, чтобы не маскировать изображение области обмена хроматид и рекомбинационный узелок. Стрелки 3 — когезины, скрепляющие СХ, 4 — поздний рекомбинационный узелок в сайте кроссинговера (оригинал).

На фотографии белая стрелка — эллипсоидный рекомбинационный узелок, черные стрелки — латеральные элементы синаптонемного комплекса, ЯМ — двойная ядерная мембрана, сохраняющаяся во время диплотены.



**Рис. 4.10.** Распределение поздних рекомбинационных узлов (РУ) вдоль синаптонемных комплексов (СК) на стадии пахитены в материнских клетках пыльцы кукурузы *Zea mays* (инбредная линия KYS).

Горизонтальная ось — длина СК, разделенная на интервалы с шагом 0,2 мкм. На вертикальной оси указано число РУ, обнаруженных в каждом интервале длины СК при исследовании 208 МПК; **а** — СК самой длинной в кариотипе хромосомы 1, **б** — самой короткой хромосомы 10. КХ — позиция кинетохора, горизонтальная прямая линия — среднее число РУ на интервал 0,2 мкм длины данной хромосомы, сплошная кривая — среднее число РУ в каждом интервале для 208 исследованных клеток. По Anderson et al., 2003.



**Рис. 4.11.** Корреляция числа поздних рекомбинационных узлов (РУ) и длины синаптонемных комплексов (длины пахитенных хромосом) у кукурузы.

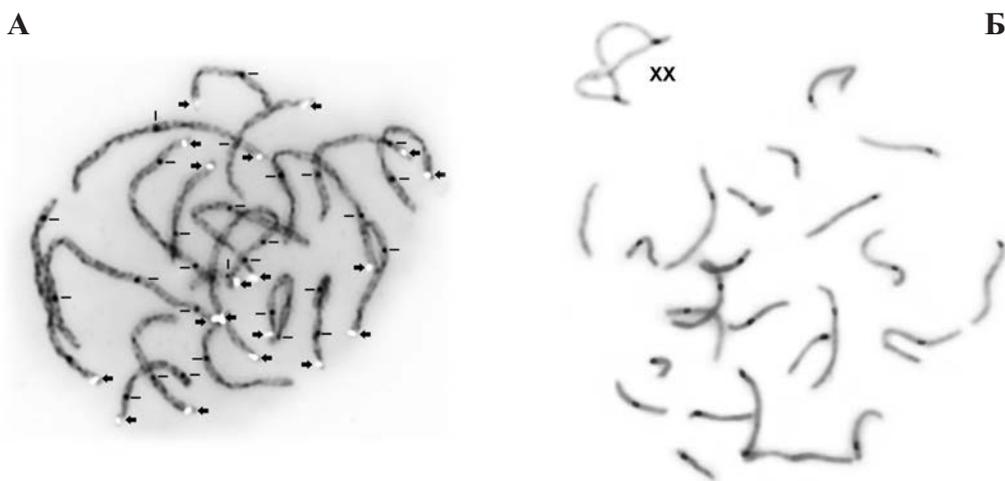
**А** — корреляция числа РУ и абсолютной длины СК в мкм. **Б** — корреляция среднего числа РУ в хромосомном плече и средней длины плеча в мкм. По: Anderson et al., 2003, адаптировано с изменениями.

ровано 4267 поздних РУ. Мейотические клетки кукурузы несут 10 СК-бивалентов ( $2n=20$ ). Соответственно, для картирования каждого бивалента пахитеной клетки изучено более 200 клеток по 10 бивалентам в каждой, и на каждый номер бивалента пришлось (в среднем) не менее 2 РУ. Опубликованы гистограммы распределе-

ния РУ на всех 10 парах (бивалентах) хромосом кукурузы (Anderson et al., 2003). На рис. 4.10 мы приводим из них лишь гистограммы для самой длинной и самой короткой пар хромосом, 1-й и 10-й, соответственно. Картины распределения РУ в остальных пахитенных бивалентах полностью укладываются в закономерность, которая видна на рис. 4.10, а именно: поздние РУ редко встречаются в центромерных районах хромосом.

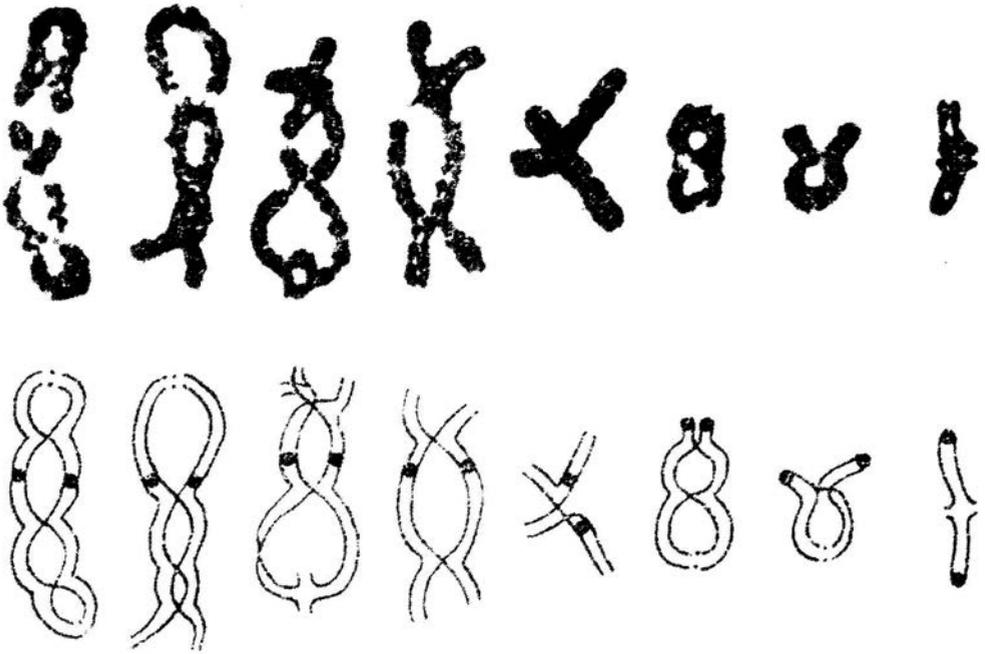
Среднее число РУ на интервал длиной 0,2 мкм любой из 10 пар пахитенных хромосом находилось в пределах от 2 до (редко) 3,5 РУ. Однако в теломерных сегментах хромосомы 1 среднее число РУ достигало семи, а в хромосоме 10 — девяти РУ.

В том же исследовании на инбредной линии кукурузы подтвердилась главная закономерность проявления кроссинговера: его частота прямо пропорциональна длине (пахитенной) хромосомы. Это доказывается рисунком 4.11, на котором показана корреляция числа РУ со средней длиной плеч субметацентрических хромосом кукурузы. Такая же корреляция обнаружена для средней длины всех 10 пар хромосом без отдельного учета длины плеч (здесь не представлено).



**Рис. 4.12.** Локусы хиазм в сперматоцитах животных на стадии пахитены, выявленные с помощью флуоресцирующих мышинных антител к человеческому белку MLH1 — указаны чёрточками; черно-белые инвертированные копии цветных флуоресцентных изображений. Синаптонемные комплексы иммуноокрашены антителами к белку SYCP3.

А — сперматоцит ящерицы *Darevskia portschinskii*,  $2N=38$  (18AA+ZZ), все хромосомы акроцентрические, центромеры указаны головками стрелок (иммуноокраска кинетохоров анти-сывороткой CREST). Б — сперматоцит слепушонки *Ellobius talpinus*,  $2n=54$  (26AA+XX<sub>1</sub>); половой бивалент XX<sub>1</sub> имеет две хиазмы, а два аутосомных бивалента в данной клетке не имеют фокусов свечения анти-MLH1 (возможно, по техническим причинам). Фокусы свечения MLH1 выглядят как жирные точки. Микрофотографии любезно предоставлены В.Е. Спангенбергом (А) и С.Н. Матвеевским (ИОГен РАН, Москва).

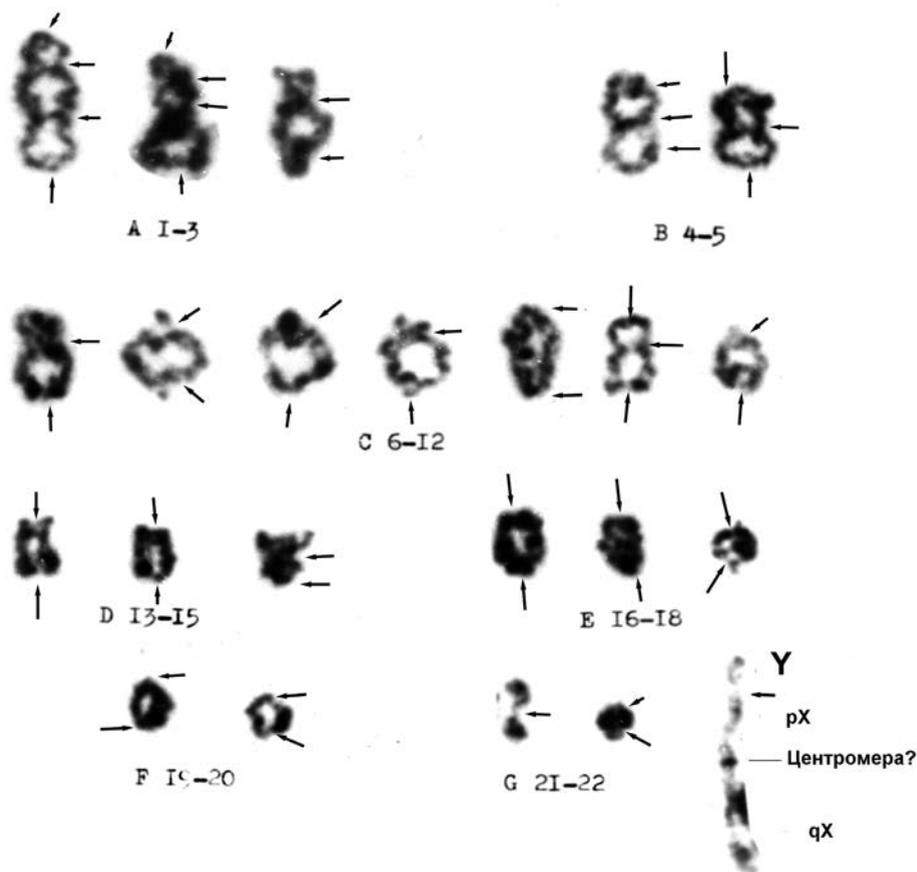


**Рис. 4.13.** Хиазмы в диплотене у прямокрылого насекомого.

На рисунке показаны хромосомы в диакинезе у прямокрылого насекомого (Orthoptera), окрашенные ацетокармином, и их схематические зарисовки, на которых обозначены хиазмы. На микрофотографиях центромеры не окрашены, на зарисовках обозначены чёрными точками. Из архива лаборатории цитогенетики ИОГен.

## Хиазмы

Хорошим и доступным биологическим материалом для изучения локализации хиазм и биологического значения этих признаков служат прямокрылые насекомые с крупными хромосомами (Jones, 1987). В многолетней серии исследований этого автора описаны примеры влияния аномалий в структуре СК на формирование хиазм. Например, наследственно закрепленное утолщение дистальной части одного из латеральных элементов СК у кузнечика *Stethophyma grossum* служит причиной отсутствия хиазм в этой области бивалента. Равным образом локальная задержка или нерегулярное формирование СК у представителей нескольких видов саранчовых, выловленных в природных условиях (Высоцкая и др., 1995), вероятно, служат причинами неслучайного отсутствия хиазм в этих районах хромосом. Эти авторы справедливо полагают, что систематическая локальная супрессия хиазмообразования, обнаруженная ими у некоторых видов саранчовых, по-



**Рис. 4.14.** Хиазмы в диакинезе у человека.

На рисунке хиазмы указаны стрелками. Под бивалентами указаны номера хромосом. При этом способе окраски хромосом (окраска ацетоорсеином) они идентифицируются только с точностью до группы (А–G). рХ — короткое плечо Х-хромосомы, qX — длинное плечо. Кольцеобразные биваленты маленьких хромосом имеют две концевых хиазмы, положение которых на таких препаратах установить трудно. ХУ — половой (палочковидный) бивалент, который несёт только одну концевую хиазму. Микрофотография хромосом человека из архива А.А. Прокофьевой-Бельговской. Автор микрофотографии неизвестен.

вышает вероятность прочного сцепления генов в этих районах хромосом, что может служить фактором консервирования таких блоков генов в микроэволюционном процессе.

Целесообразно перечислить главные характеристики хиазм.

1. Хиазмы возникают между несестринскими хроматидами как результат кроссинговера. Благодаря хиазмам становится видимым физический обмен сегментами хроматид.

2. В каждой точке (позиции) бивалента хиазмы возникают только между двумя несестринскими хроматидами (молекулами ДНК) бивалента. Любая из этих двух хроматид может образовать хиазму с любой другой из двух несестринских хроматид в другой позиции, удалённой от первой хиазмы на расстояние, допускаемое правилом интерференции хиазм.
3. Хиазмы становятся видимыми под обычным микроскопом только на стадии диплотены, когда разрушается непрерывный синаптонемный комплекс между гомологичными хромосомами и гомологичные хромосомы отделяются (хорошее старое описание — отталкиваются) одна от другой. Отталкиваются — потому что между хиазмами получаются топологически замкнутые суперскрученные молекулы. Условие отталкивания — обязательное для визуализации и идентификации хиазм, ибо сестринские и несестринские хроматиды не различимы на стадии пахитены (когда ещё нет отталкивания).
4. Наиболее точная идентификация и подсчёт числа хиазм (в хромосоме и в целом на набор хромосом) возможны лишь на стадии диплотены. В некоторых случаях исследователям приходится идентифицировать и подсчитывать хиазмы на стадиях диакинеза и метафазы I, но эти наблюдения менее достоверны, и подсчёты, как правило, занижены.

Конъюгированные с флуорохромами (проще — флуоресцирующие) антитела к белку MLH1 — весьма надёжные иммуноцитохимические маркёры хиазм (Anderson et al., 1999). Однако по техническим причинам некоторые фокусы флуоресценции могут теряться на отдельных бивалентах (рис. 4.12). Тогда приходится решать вопрос: является ли это методическим недостатком или истинной (случайной или неслучайной) ахиазматией данного бивалента в данной клетке.

Визуальная идентификация хиазм — искусство, основанное на квалификации микроскопистов, хорошо знающих мейотические хромосомы того объекта, который они изучают. Рисунки 4.13 и 4.14 демонстрируют трудности визуальной идентификации хиазм (особенно, как ни странно) в длинных хромосомах, где число хиазм может быть больше трёх на бивалент. Электронно-микроскопическое выявление РУ, контрастированных тяжёлыми металлами, — наиболее надёжный способ выявления хиазм на стадии пахитены. Однако он доступен только при наличии *просвечивающего* электронного микроскопа.

## Заключение

Теоретической основой для исследования молекулярных механизмов рекомбинации и кроссинговера в конце XX века и начале XXI века служила и служит модель рекомбинации на основе репарации двунитевых разрывов ДНК (Szostak et al., 1983). Она проверялась, уточнялась и, в целом, оправдалась. «Инструментами» для исследования молекулярных процессов, из которых складывается кроссинговер, служат, прежде всего, мутации специфических генов мейоза, найденные или индуцированные у модельных организмов. Наибольшее число мутаций, влияющих на рекомбинацию, обнаружено у одноклеточных почку-

ющихся дрожжей *S. cerevisiae* и делящихся дрожжей *S. pombe*, но число обнаруженных мутаций гомологичных им генов у многоклеточных организмов постепенно приближается к этому уровню (Гришаева, Богданов, 2000, 2018; Богданов, 2017; Симановский, Богданов, 2018). Чрезвычайно важными инструментами для исследования мейоза у мутантов и нормальных организмов стали методы иммунофлуоресцентной цитохимии (Anderson et al., 1999; Lisachov et al., 2015; Spangenberg et al., 2017), которые позволяют локализовать в клеточных ядрах и хромосомах белки, участвующие в явлениях, происходящих на определенных стадиях мейоза.

**Основные решенные вопросы.** В общих чертах решена проблема «выбора» метаболического пути между кроссинговером и бескроссоверной репарацией двуниевых разрывов ДНК в мейозе и создана наглядная модель. Доказано, что «решение», или «выбор», между кроссинговером или репарацией без кроссинговера для каждого локуса (и расхождение этих путей) происходит не в поздней, а в ранней профазе I мейоза, во время инвазии конца одонитевой ДНК в гомологичную молекулу ДНК — в несестринскую или сестринскую хроматиду, соответственно (Гришаева, Богданов, 2000; Börner et al., 2004).

Установлено существование эволюционно консервативного «стержневого» комплекса белков рекомбинации у большинства модельных организмов (Börner et al., 2004; Loidl, 2016). Как ни странно, наименьшее число генов, входящих в этот комплекс, обнаружено у дрозофилы *D. melanogaster*. Но постепенно исследователи находят, что у дрозофилы функцию генов и белков «стержневого комплекса» выполняют другие, функционально аналогичные гены и белки, не гомологичные таковым у других модельных организмов. Установлено, что синаптонемные комплексы служат ультраструктурными компартментами, в которых функционируют белки «стержневого комплекса» и другие белки рекомбинации (West et al., 2019).

Доказано одновременное существование кроссинговера двух типов — подверженного и не подверженного интерференции — и существование гомеостаза кроссинговера, который обеспечивает каждую пару гомологичных хромосом хотя бы одной хиазмой (Gray, Cohen, 2016). Доказана важная роль когезии сестринских хроматид в сайте хиазмы для сохранения хиазмы до начала анафазы I мейоза.

Число конкретных решенных вопросов велико, и их можно найти в цитируемых нами обзорных статьях других авторов.

Можно прогнозировать, что в ближайшие годы внимание исследователей будет сосредоточено на решении проблемы молекулярного, вероятно, эпигенетического механизма интерференции кроссинговера. Есть гипотезы, но нет надежных доказательств природы и механизма этого очень существенного явления.

Мы не касались важной проблемы конверсии, относящейся к общей проблеме мейотической рекомбинации. Она требует специального анализа.

## Глава 5.

# Организация мейотических хромосом, их транскрипционная активность и проблема взаимного узнавания гомологичных локусов

В главе приведено сравнение диапазона изменений длины хромосом в ходе стадий мейоза, который оказывается более широким, чем диапазон таких изменений в ходе митоза. Описана физическая структура хромосом в профазе I мейоза. Хромосома организована в виде последовательности латеральных петель хроматина (образованных непрерывной молекулой ДНК), прикрепленных вдоль белковой оси хромосомы, существующей только в профазе мейоза. Вводится понятие модулей организации хромосом в профазе I мейоза. Приведены примеры увеличения степени компактизации ДНК в ходе профазы I (отношения линейной длины ДНК к длине хромосом на стадии пахитены) по мере увеличения размеров генома в филогенетическом ряду организмов. Это свидетельствует о появлении новых уровней упаковки ДНК, уложенной в виде латеральных петель.

Сообщается об изменении транскрипционной активности хромосом в профазе мейоза при переходе от зиготены к пахитене. В мужском мейозе XY-бивалент подвергается глубокой супрессии транскрипции и выселяется на периферию клеточного ядра. Приводятся данные о белках мейоза, которые участвуют в этом подавлении транскрипции (сайленсинге) хромосом в мейозе. Рассматривается проблема взаимного узнавания и притяжения гомологичных локусов, а также взаимоотношения во времени и причинной связи притяжения (синапсиса) хромосом и рекомбинации (кроссинговера). Выясняется роль в этих процессах ядерной мембраны и синаптонемных комплексов.

## Сравнение физических параметров хромосом в митозе и мейозе

Физическая и пространственная структура мейотических хромосом отличается от организации хромосом в цикле митоза настолько, насколько это нужно для обеспечения временной ассоциации (синапсиса и кроссинговера) гомологов и их сегрегации — разъединения и расхождения в дочерние клетки в мейозе I. Изменений в ДНК хромосом не происходит, но хромосомы приобретают некоторые новые структурные белки: модифицированные гистоны, специфический «гистон мейоза» (Sheridan, Stern, 1967; Stokov et al., 1973; Meistrich, 1982) и мейоз-специфические когезины (Гришаева и др., 2007). В ходе мейоза хромосомы у всех организмов ремодулируются трижды: при вступлении в профазу I (и далее в ходе этой стадии), при переходе от профазы I к метафазе I, а затем — во втором делении мейоза — возвращаются к структуре, характерной для митоза (с её циклической конденсацией\деконденсацией: профазы — метафазы — анафазы — интерфазы).

Бросятся 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), средняя длина хромосом в профазе I мейоза у *Vicia faba* составляет 98 мкм, а в профазе митоза — только 48 мкм. Во время метафазы имеет место иное соотношение — в метафазе I мейоза средняя длина хромосом составляет 9 мкм, а в метафазе митоза — 13 мкм. Таким образом, сокращение длины хромосом от ранней профазы I до метафазы I в мейозе происходит почти в 11 раз (укорочение хромосом от 98 до 9 мкм), и этот диапазон примерно в 3 раза шире, чем в митозе (где укорочение происходит от 48 до 13 мкм, т.е. всего в 3,5 раза). Аналогичное соотношение в мейозе и митозе обнаружено и у других растений (табл. 5.1).

Таблица 5.1.

Средняя длина хромосом (в мкм) в митозе и мейозе у растений (по Sax, Sax, 1935).

Вид растений	Меристема корешков.		Материнские клетки пыльцы.	
	Митоз		Мейоз	
	Профаза	Метафаза	Профаза I	Метафаза I
<i>Vicia faba</i>	48	13	98	9
<i>Tradescantia</i> sp.	56	21	81	9
<i>Lilium regale</i>	35	22	83	12
<i>Secale cereale</i>	37	14	61	8

Необходимо понять, почему это происходит. Простое объяснение удлинению хромосом в ранней профазе I мейоза состоит в том, что часть локусов хромосом (начиная со стадии лептотены) прикреплена к белковому осевому элементу (остальные остаются в виде латеральных петель хроматина), и осевой элемент растягивает прикрепленные к нему локусы и саму хромосому на определенное расстояние — дальше, чем они располагаются в той же хромосоме в профазе митоза. Такая петельно-осевая организация хромосом в профазе I может существовать только в том случае, если латеральные петли являются частями непрерывной молекулы ДНК, иными словами, соединяются отрезками (сегментами) непрерывной двойной спирали ДНК, проходящей внутри СК от петли к петле. Следовательно, синаптонемные комплексы должны содержать в своем составе небольшое количество ДНК, очень малое по массе по сравнению с остальной массой ДНК генома и по сравнению с массой белков СК. Эта закономерность была доказана экспериментально. Изучая молекулярный состав изолированных синаптонемных комплексов, исследователи обнаружили, что в них сохраняется от 0,1 до 0,2% геномной ДНК (Карпова и др. 1989). Эта двуспиральная ДНК и обозначена авторами как СК-ДНК (СКАР ДНК, SC-associated DNA). Она представляет собой фрагменты длиной от 50 до 3000 пар нуклеотидов с модальной длиной около 200 пн. Они сохраняются в составе СК после обработки фракции этих СК (вы-

деленных из пахитенных ядер мыши, крысы и золотистого хомячка) ДНКазой-I или ДНКазой-II. Эти фрагменты ДНК защищены белками СК от гидролиза ДНКазами (Карпова и др., 1989, 1995; Pearlman et al., 1992). Установлен нуклеотидный состав этих фрагментов. Они обогащены ГТ/ЦА-парами нуклеотидов — так называемыми простыми повторами  $(GT/CA)_n$  или  $(AC/TG)_n$  — в 25 раз и даже в 38 раз по сравнению с ДНК (Pearlman et al., 1992; Карпова и др., 1995) и повторами типа LINE, B1 (у мыши) и AluJb (у человека) (Карпова и др., 1995; Гришаева и др., 2005; Дадашев и др., 2005). Эти повторы эволюционно консервативны (Пенкина и др., 2008). По-видимому, это те фрагменты ДНК, которые находятся в «недрах» латеральных элементов или в центральном пространстве СК. В публикациях Клекнер (Kleckner, 2006) утверждается, что модули латеральных петель ДНК (хроматина) ассоциированы с волокнистыми структурами латеральных элементов СК с помощью треков А/Т-пар нуклеотидов. Таким образом, сообщения об обогащенности фракции СК-ДНК, контактирующей с белками СК, за счёт простых повторов  $(AC/TG)_n$  (Карпова и др., 1995), тетра-нуклеотидов типа ТААА/АТТТ (Пенкина и др., 1999), с одной стороны, и ассоциации белков СК (когезинов) с треками А/Т-пар нуклеотидов (Kleckner, 2006), совпадают. В этих же исследованиях есть ссылки на то, что простые повторы типа  $(AC/TG)_n$ , введенные в геном дрожжей, повышают частоту рекомбинации. Такими же повторами обогащены гены иммуноглобулинов человека, подверженные высокой рекомбинации в соматических клетках.

С наступлением XXI века клеточные биологи обратили внимание на конденсины — белки, ответственные за упаковку элементарных хромосомных нитей в «тело» компактной 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 мейотических хромосом и диапазон изменения от максимальной длины в профазе I до минимальной в метафазе I описан для нескольких видов растений и животных (Zickler, Kleckner, 1998, 1999), и это может считаться универсальным правилом. Количественным критерием компактизации хромосом может служить сравнение их длины с длиной ДНК в геноме. Результаты такого сравнения приведены в таблице 5.2. Указаны длина геномной ДНК (депротеинизированной ДНК в растворе) 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 хромосом в метафазе митоза. Сравнение, приведенное в таблице 5.2, дает и другую информацию. Оказывается, что при увеличении размера генома (длины молекул ДНК) примерно в 100 раз (от  $2,8 \times 10^3$  мкм у дрожжей до  $1,7 \times 10^5$  мкм у шелкопряда) степень компактизации ДНК в пахитенных хромосомах увеличивается в 8 раз, а при дальнейшем увеличении длины генома ещё в 10 раз (до  $1,9 \times 10^6$  мкм у саранчи) происходит скачкообразное увеличение степени компактизации ДНК ещё в 7–8 раз. Дальнейшее увеличение длины ДНК в геноме до  $1,6 \times 10^7$  мкм не вызывает изменения степени компактизации ДНК в пахитенных бивалентах. Несмотря на ограниченное число данных в таблице 5.2, можно предполагать, что при длине генома порядка  $10^6$  мкм появляется новый уровень организации (компактизации) ДНК в хро-

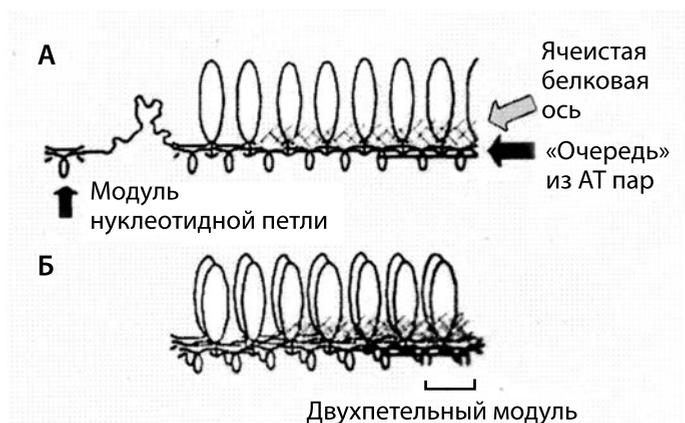
мосомах. После составления таблицы появились дополнительные данные, собранные в аналогичной, но более сложной таблице (Kleckner, 2006, Appendix). Эти данные не изменяют картину и лишь насыщают ее новыми фактами.

Таблица 5.2.

Сравнение суммарной длины хромосом в метафазе соматических клеток, а также суммарной длины пахитенных хромосом, измеренной по длине синаптонемных комплексов, с суммарной длиной молекул ДНК в геноме (гаплоидные наборы) (из Богданов, 1983).

Объект	Суммарная длина молекул ДНК в геноме, мкм (А)	Длина хромосом, мкм (В)	Длина хромосом, в % от длины ДНК	Степень компактизации (А/В)	Авторы работ, в которых измерены длина ДНК (1) и длина хромосом (2), цитируются в публикации: Богданов (1983).
<b>Метафаза митоза</b>					
<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	1,2. Huberman, Rigs, 1966
<b>Пахитена мейоза</b>					
Дрожжи <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	$2,8 \times 10^3$	28	(?) 1	100	1,2. Byers, Goetsch, 1975
Нейроспора <i>Neurospora crassa</i>	$1,6 \times 10^4$	50	0,3	330	1,2. Gillies, 1972
<i>Drosophila melanogaster</i>	$5,4 \times 10^4$	100	0,2	540	1. Laird, 1973 2. Carpenter, 1975
Аскарида <i>Ascaris suum</i>	(?) $9 \times 10^4$	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	1,2. Rasmussen, 1976
Кукуруза <i>Zea mays</i>	$2,6 \times 10^5$	353	0,13	740	1,2. Gillies, 1973
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>	$1,1 \times 10^6$	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 <sup>(а)</sup> <i>Lilium longiflorum</i>	$1,6 \times 10^7$	3700	0,023	4300	1. Taylor, McMaster, 1954 2. Holm, 1977

<sup>(а)</sup> — длина СК лилии указана для стадии зиготены.



**Рис. 5.1.** Модульная организация хромосомы в ранней профазе I мейоза (от лептотены до пахитены) по представлениям Клекнер (Kleckner, 2006) с упрощением.

А — модель одной хроматиды, Б — модель хромосомы, состоящей из двух хроматид.

Мы знаем, что длина синаптонемного комплекса (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 вблизи значения 20 петель на 1 микрон длины оси. Клекнер (Kleckner, 2006) предполагает существование некоего базисного модуля в структуре хромосомы и называет модулем трек АТ-пар нуклеотидов и прилежащий к нему сегмент ДНК, не насыщенный АТ-парами. Согласно модели Клекнер, АТ-богатые треки нуклеосомной нити хроматина крепятся к белкам когезинового комплекса (стержня хромосомных осей), а протяженные районы молекулы ДНК между этими треками образуют латеральные петли (рис. 5.1).

Независимо от того, существуют эти модули или нет, размеры петель хроматина и плотность их расположения в хромосоме (и особенно в пахитенных хромосомах, прикрепленных к СК) эволюционно консервативны. Следствие этой закономерности можно обнаружить в том, что у организмов с разными размерами геномов наблюдаются одинаковые механизмы мейоза. В частности, оказывается одинаковой схема синапсиса гомологичных хромосом и «конструкция» СК. Это приспособление структурной организации хромосом к конструкции, оптимальной для мейоза, достигается путем изменения размера петель, а принцип организации хромосом остается неизменным и, вероятно, именно модульным. Этот принцип постоянен: петли хроматина прикреплены к хромосомной оси и расположены вдоль этой оси с постоянной плотностью.

Длина латеральных петель может быть весьма большой. Например, в пахитенных хромосомах человека длина латеральных петель хроматина может достигать

1 мкм (Гришаева и др., 2013). 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 белка осевых элементов SMC1 $\beta$ , длина СК в два раза меньше, а размер петель в два раза больше, чем у мышей дикого типа (Revenkova et al., 2004).

## Общие закономерности организации мейотических хромосом

Существуют в той или иной степени 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 (Шеваль, Поляков, 2006) и мейоза (Zickler, Kleckner, 1999; Kleckner, 2006) петли хроматина крепятся к кольцам когезиновых белков, которые пунктирно проходят вдоль всей хромосомы. При этом петли, принадлежащие сестринским хроматидам, расположены супротивно. В профазе I мейоза когезиновые оси хромосом становятся более массивными и морфологически выраженными вследствие присоединения к когезинам специфических белков мейоза, формирующих оси лептотенной и зиготенной хромосомы и латеральные элементы СК. Эти белки описаны в главах 14–16. На основе пока немногих тонких наблюдений ультраструктуры и иммуноцитохимической организации латеральных элементов СК Клекнер (Kleckner, 2006) прогнозировала, 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 составе препаративно изолированных СК мыши и золотистого хомячка достигает 0,5% от количества геномной ДНК (Карпова и др., 1989, 1995). При этом длина фрагментов ДНК, содержащихся во фракции изолированных СК, лежит в пределах 50–3000 пар нуклеотидов. Такие сегменты непрерывной молекулы ДНК, продетой подобно нитке сплошного шва вдоль латеральных элементов, должны придавать белковым латеральным элементам определенную эластичность в силу эластических свойств двойной спирали ДНК. Эти факты и соображения объясняют происхождение реально существующей эластичности неспаренных лептотенных и зиготенных осей хромосом (их клубки в лептотене и петли «букета» в зиготене) и даже эластичности латеральных элементов СК в пахитене. В частности, СК (у разных организмов по-разному и на разных субстадиях пахитены) образуют «твисты» — повороты вокруг продольной оси. Это тоже следствие эластичности латеральных элементов СК.

Известно, что длина осевых элементов сильно уменьшается за время, которое они существуют от начала лептотены до завершения зиготены, и длина СК также меняется на протяжении пахитены (Zickler, Kleckner, 1998). В результате таких изменений основания петель хроматина, крепящихся к осевым элементам, сближаются, и это способствует увеличению плотности хроматина по бокам от ленты СК. Модель модульной организации осевых элементов хромосом в мейозе представлена на рис. 5.1. Смысл такой организации состоит в том, что она максимально выгодна для двух процессов. Первый из них — попарное узнавание гомологичных локусов (пока трудно сказать, за счет узнавания локусов, расположенных в латеральных петлях хромосом, или локусов, инвагинированных в синаптическое пространство между гомологичными хромосомами). Второй процесс — построение сплошной белковой 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, которые крепятся к элементам СК; чаще всего — к поперечным филаментам СК, но нередко — к латеральным элементам СК (см. главы 3 и 4).

## Транскрипция хромосом в мейозе

Транскрипция хромосом продолжается на протяжении всего онтогенеза многоклеточного организма. Однако разные гены и целые сегменты хромосом транскрибируются в разное время в зависимости от периода онтогенеза и от специфики тканей. При этом в премейотических клетках прекращается транскрипция многих тканеспецифичных генов гонад, уже выполнивших свою роль в морфогенезе гонад и в подготовке к запуску мейоза. Хромосомы мейотических клеток готовятся к рекомбинации и собственным манёврам в ходе кинетических стадий мейоза. На протяжении профазы I мейоза, которая у многих организмов длится часами (см. гл. 8), наблюдается прекращение массовой транскрипции, несовместимой с попарным синапсисом гомологичных хромосом и рекомбинацией хромосом. Накануне и во время длительной профазы I мейоза происходит транскрипция генов, кодирующих белки, необходимые для самого мейоза. Кроме того, в сперматоцитах транскрибируются гены белков для спермиогенеза (многоэтапного развития сперматид и формирования спермиев), а в ооцитах — гены, кодирующие мейоз-специфичные белки и долго живущие мРНК, а также многочисленные типы малых ядерных РНК для будущей зиготы (см. гл. 6). Исследование транскрипционной активности 790 различных генов мыши на разных стадиях мейоза показало, что на стадии перехода от поздней зиготены к ранней пахитене происходит смена транскрипционной программы (Ben-Asher et al., 2010). Результаты, полученные этими исследователями, позволяют предположить, что кульминационное событие физического обмена генетическим материалом между гомологичными хромосомами, которое происходит в ранней пахитене, требует очень точного и уникального транскриптома. Клетки готовятся к этому событию, активизируя конкретные гены, и временно супрессируют любые гены, которые могут помешать (например, гены, связанные с апоптозом, супрессируются в период образования двойных разрывов ДНК). Стадию ранней

пахитены авторы называют ключевой и бурной с точки зрения транскрипционной активности (Ben-Asher et al., 2010). Эти выводы совпадают с результатами ранних исследований синтеза тотальной РНК в профазе I мейоза у многих объектов (обзор: Ляпунова, Богданов, 1975). В тех исследованиях было показано, что пик инкорпорации в клеточные ядра сперматоцитов меченого уридина, специфически включающегося в состав РНК, наблюдается именно во время пахитены.

**Молчание (сайленсинг) генов в ходе профазы I.** Сайленсинг генов, или сайленсинг хроматина (от английского *silence* — тишина), — это подавление экспрессии генов (молчание) на тех стадиях развития клетки или в тех случаях, когда транскрипционная активность может нарушить главные происходящие в клетке события: синапсис хромосом, рекомбинацию. Это эпигенетический процесс, не нарушающий структуру ДНК. Различают сайленсинг транскрипционный (о нём ниже) и посттранскрипционный. Последний происходит с помощью РНК-интерференции, и мы о нём далее не упоминаем.

Транскрипционный сайленсинг неспаренных в ходе профазы мейоза участков хроматина (MSUC — *meiotic silencing of unsynapsed chromatin*) происходит с помощью модификации гистонов. В результате этого соответствующие участки хроматина становятся недоступными для РНК-полимеразы и факторов транскрипции. Этот процесс происходит в мейозе как у самок, так и у самцов (Turner et al., 2005). У обоих полов наблюдается молчание отдельных участков аутосом, если они по каким-то причинам остаются во время пахитены не синаптированными. Такой сайленсинг может иметь негативные последствия, так как могут быть выключены гены, необходимые для нормального протекания мейоза (Cloutier, Turner, 2010). При таком сайленсинге, если он затрагивает локусы хромосом, транскрипция которых необходима для прохождения мейоза, может наступить «пахитенный арест»: остановка мейоза на стадии пахитены и далее — апоптоз клеток, подвергнувшихся этому аресту (Коломиец и др., 2001; Курило, 2012). Процесс MSUC, вероятно, закрепился в ходе эволюции как селективный механизм для исключения из процесса мейоза клеток с дефектами синапсиса.

Одна из разновидностей транскрипционного сайленсинга — облигатный сайленсинг половых хромосом (MSCI — *meiotic sex chromosome inactivation*) (Turner, 2007). При этом аутосомы остаются транскрипционно активными (Daish et al., 2015), в том числе те участки, где расположены мейоз-специфичные гены. MSCI происходит в мейозе у видов млекопитающих с гетероморфными половыми хромосомами (XY). Эти хромосомы синаптируют только на небольшом участке, называемом псевдоаутосомным районом (PAR). Большая часть X- и Y-хромосом остаётся неспаренной (Burgoyne, 1982). Чтобы мейоз мог идти дальше, клетке необходимо пройти соответствующий контрольный пункт (checkpoint), который отслеживает степень спаривания хромосом. Для преодоления этого контрольного пункта и происходит сайленсинг несинаптированных частей обеих половых хромосом. С помощью замалчивания исключается также кроссинговер и, следовательно, обмен генетическим материалом между гетерологичными последовательностями X- и Y-хромосом (Daish et al., 2015).

Морфологическим проявлением сайленсинга (инактивации) полового бивалента XY является конденсация хроматина по мере превращения этого бивалента в

так называемое половое тельце (старый термин — половой пузырьёк) (рис. 5.2, 5.3). В течение поздней пахитены осевые элементы X- и Y-хромосом образуют клубок переплетённых нитей. Постепенно половой бивалент выселяется на периферию ядра и образует половое тельце (Богданов, Коломиец, 2007; Cloutier, Turner, 2010). Инактивация половых хромосом сохраняется у млекопитающих и после мейоза, в сперматиде вплоть до образования спермиев.

Варианты сайленсинга половых хромосом присутствуют у разных видов, представляющих разные линии развития эукариот: у грибов, нематод, насекомых, птиц и млекопитающих. Несмотря на общую направленность, есть фундаментальные различия в способе сайленсинга. Например, у млекопитающих и нематоды репрессия неспаренных локусов хромосом осуществляется прямой эпигенетической модификацией, а нейроспора (*Neurospora crassa*) использует посттрансляционное замалчивание. У этого гриба локус гена, не спаренный с гомологом в профазе I мейоза, генерирует сигнал, который вызывает молчание всех последовательностей, гомологичных этому гену, даже тех, которые спарены. Этот процесс называется MSUD (*meiotic silencing by unpaired DNA*) (Shiu et al., 2001). В литературе обсуждается наличие MSCI у дрозофилы и курицы (Mikhaylova, Nurminsky, 2011; Guioli et al., 2012).

Для узнавания неспаренной X-хромосомы необходимы компоненты синаптонемного комплекса, в частности, белок SYCP3, а также компоненты комплекса распознавания повреждений ДНК и репарационной машины (Cloutier, Turner, 2010).

Молекулярными маркерами процессов MSUC и MSCI служит большая группа белков, участвующих в процессах репарации повреждённой ДНК, и факторов ремоделирования хроматина (Schimenti, 2005; Zamudio et al., 2008). В частно-

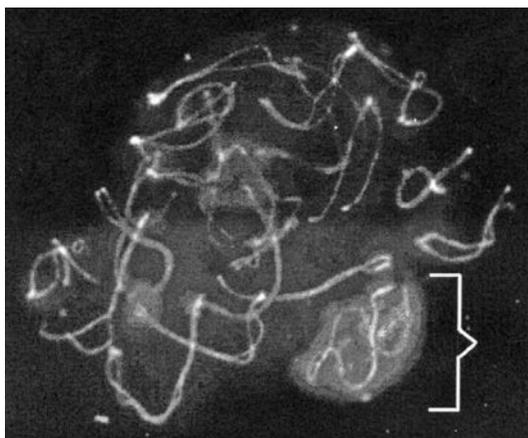


**Рис. 5.2.** Схема явлений при мейотической инактивации половых хромосом. В ранних сперматоцитах частично синаптированные аутосомы (A) и половые хромосомы (X и Y) транскрипционно активны. В пахитене аутосомы полностью синаптированы и транскрипционно активны, тогда как половые хромосомы подвержены мейотической инактивации (MSCI) и в составе полового тельца (полового пузырьёка) выселены на периферию ядра. В сперматиде транскрипция в X-хромосоме репрессирована лишь частично. ПП — «половой пузырьёк» с белками сайленсинга. Из Cloutier, Turner, 2010, с изменениями.

сти, это BRCA1, ATR, SUMO-1, XMR (Manterola et al., 2009; Матвеевский и др., 2013). Одним из основных маркеров транскрипционного сайленсинга хроматина является фосфорилированный гистон H2AX ( $\gamma$ H2AX), который выявляется на асинаптированных участках хромосом, начиная со стадии лептотены вплоть до поздней диплотены, если синапсис хромосом не завершён (Turner et al., 2006; Manterola et al., 2009).

**Белки сайленсинга.** Фермент BRCA1 (E3 ubiquitin-protein ligase) обладает широким спектром действия. В случае MSCI этот фермент привлекает в хроматин половых хромосом киназу ATR, которая фосфорилирует гистон H2AX и запускает процесс сайленсинга (Turner et al., 2004; GeneCards). ATR — это серинтреониновая протеинкиназа. ATR активирует контрольные пункты в ядре после генотоксических стрессов, фосфорилирует аминокислоту серин-139 в специфическом мейотическом гистоне H2AX/H2AFX в сайтах повреждений ДНК, регулируя ответ клетки на повреждение ДНК. Регулирует также дупликацию центросом. Ортологи этого белка не найдены у некоторых насекомых, грибов, растений, у свиньи (GeneCards). Компонентом полового тельца, образованного XY-хромосомами, является также белок XMR (он же SYCP3-like X-linked, SLX) (GeneCards).

Маркёром полового тельца служит также гистон  $\gamma$ H2AX (это фосфорилированный вариант гистона H2AX). Ген гистона H2AX присутствовал ещё у общего предка всех эукариот. Тем не менее, соответствующего белка нет у дрожжей *S. pombe* и *S. cerevisiae*, у дрозофилы, пчелы, свиньи, многих растений (GeneCards). Гистон H2AX заменяет гистон H2A в ряде нуклеосом, в результате чего хроматин компактизуется, и доступ к ДНК в этих участках прекращается. Гистон играет центральную роль в регуляции транскрипции, в репарации и репликации ДНК. Фосфорилированный вариант этого гистона ( $\gamma$ H2AX) является первым маркёром разрывов ДНК и необходим для привлечения дру-



**Рис. 5.3.** Плоский препарат целого клеточного ядра сперматоцита мыши *Mus musculus* ( $2n = 40$ , все хромосомы — акроцентрические) на стадии пахитены в поле зрения флуоресцентного микроскопа. Видны 20 синаптомемных комплексов, иммуноокрашенных светящимися антителами к белку SYCP3. Центромеры окрашены флуоресцентными антителами АСА. Каждый СК виден как одна линия без центрального пространства между латеральными элементами из-за недостаточной разрешающей способности ультрафиолетовой оптики для обнаружения «синаптической щели» между ЛЭ, кроме тех мест, где есть локальный асинапсис и ЛЭ разделены пространством более 0,12 мкм. Светящийся фон между СК — хроматин, окрашенный красителем DAPI на ДНК. Фигурной скобкой охвачен лежащий на периферии ядра половой пузырьчок с XY-бивалентом (из архива Лаборатории цитогенетики ИОГен РАН).

гих белков, участвующих в репарации ДНК. Хроматин, включающий фосфорилированный гистон, распространяется вдоль молекулы ДНК на миллион пар оснований в обе стороны от места двойного разрыва. ДНК становится менее конденсированной. После этого к белку  $\gamma$ H2AX присоединяется множество других, в том числе BRCA1, RAD51 и ATM.

Другие белки также участвуют в конденсации хроматина и создают механический каркас плотной структуры осевых элементов X- и Y-хромосом. К таким белкам относятся белок XY77 (Kralewsky, Benavente, 1997, цит. по: Богданов, Коломиец, 2007), M31 (Motzkus et al., 1999, цит. по: Богданов, Коломиец, 2007), когезины и белки СК — SYCP3 и SYCP2 (Page et al., 2006, цит. по: Богданов, Коломиец, 2007; Cloutier, Turner, 2010). Белок SYCP3 выявляется по всей поверхности полового бивалента. Белок OCNE появляется только в конце пахитены, когда структура полового тельца существенно уплотняется (Bauer et al., 1998, цит. по: Богданов, Коломиец, 2007). Особую роль приписывают белку ASY, который выявляется вне псевдоаутосомных районов (PAR) X- и Y-хромосом. Предполагается, что этот белок обеспечивает асинопсис негомологичных районов половых хромосом (Turner et al., 2000, цит. по: Богданов, Коломиец, 2007).

## Проблема взаимного узнавания гомологичных локусов хромосом

Эта проблема не сводится к попарному синапсису гомологичных хромосом с помощью синаптонемных комплексов. Синаптонемные комплексы соединяют хромосомы, когда гомологи предварительно выровнены, начиная с теломер. А теломеры гомологов прикрепляются рядом к внутренней поверхности ядерной мембраны. Причину и механизм этого явления мы обсудим несколько позднее. Гомологи могут правильно синаптировать потому, что паттерн крепления гомологичных сайтов ДНК на хромосомных осях одинаков. Если этот паттерн (рисунок) у двух гомологов различается, например, из-за крупной гетерозиготной инверсии, то (как известно из курса генетики) при синапсисе возникают либо локальный асинопсис, либо инверсионная петля гомологичных хромосом. После открытия синаптонемных комплексов обнаружили, что и латеральные элементы СК тоже образуют инверсионные петли. Но при инверсии небольшого размера латеральные элементы СК иногда «игнорируют» гомологию и соединяют инвертированные участки хромосом без зоны асинопсиса (Федотова и др., 1991; Богданов, Коломиец, 2007). Подобные случаи называются синаптической «пригонкой» (adjustment) «Пригонке» подвергаются и гетерозиготные инверсии у животных (Borodin et al., 1990): сначала (в ранней пахитене) образуется асимметричная латеральная петля дублированного участка хромосомы, а затем эта петля втягивается, и длина дублированной хромосомы «пригоняется» к длине нормального гомолога (Бородин и др. 1990). Не подвергаются пригонке крупные гетерозиготные транслокации (Богданов и др., 1996; Богданов, Коломиец, 2007). Таким образом, формирование СК — это не причина, а следствие узнавания гомологичных локусов, а иногда — следствие игнорирования гомологии из-за взаимной пригонки индифферентных к гомологии латеральных элементов СК, прикрепленных к гетерозиготной инверсии или дубликации. Это один

из частных случаев самосборки СК. Примеры самосборки белков СК, не зависящей от гомологии хромосом, и вообще белков СК, не связанных с хромосомной ДНК, приведены в гл. 16, и там дано объяснение этого феномена. Таким образом, явление взаимного узнавания и притяжения гомологичных локусов существовало и продолжает существовать независимо от открытия синаптонемных комплексов. Малоконденсированные гомологичные хромосомы мейотических клеток на стадии перехода от лептотены к зиготене как-то «узнают» одна другую, и их гомологичные локусы конъюгируют (соединяются).

Природа молекулярных механизмов взаимного узнавания гомологичных локусов хромосом, строго говоря, не известна, и эта проблема исторически считается центральной проблемой мейоза (Darlington, 1937; Прокофьева-Бельговская, 1975). Кстати, она является проблемой не только мейоза, ибо взаимное узнавание и притяжение гомологичных локусов хромосом имеет место и в политенных хромосомах (Прокофьева-Бельговская, 1986). Загадка конъюгации гомологичных хромосом — крупная проблема молекулярной генетики. История исследований этой проблемы уходит в 30-е годы XX века, если не раньше, и в свое время многократно описана разными авторами (Груздев, 1975; Прокофьева-Бельговская, 1975; Ляпунова, Богданов, 1975; Богданов, 1971, 1989).

На начало XXI века существует два предположения о природе взаимного узнавания гомологичных локусов хромосом. Одно из них основано на распределении по хромосомам транскрибируемых сайтов или транскрипционных факторов (Cook, 1997). Другое основано на распределении новообразованной, но не процессированной РНК (Velasquez-Nin et al., 2003; цит. по: Meiosis, 2009, Eds. Benavente R., Volf J.-N.).

Первая гипотеза исходит из того, что каждая хромосома имеет вдоль своей длины уникальное поле транскрибируемых единиц. Поэтому фибриллы хроматина с расположенными (сидящими) на них полимеразами и транскрипционными факторами уложены в виде латеральных петель, и только гомологичные хромосомы имеют совпадающий рисунок расположения этих петель. Поэтому эти петли могут застёгиваться одна с другой по принципу застёжки-«молнии». Пожалуй, это довольно примитивная гипотеза. Она просто повторяет старую «морфологическую» гипотезу 30-х годов о том, что гомологичные хромомеры какими-то силами взаимно притягиваются (Darlington, 1937).

Вторая гипотеза также использует данные о транскрипции для предположения о механизмах притяжения гомологов. В результате исследований транскрипции на последовательных стадиях: в S-фазе,  $G_2$  (прелептотене), лептотене и зиготене — обнаружена транскрипция, но при этом очень вялое процессирование пре-мРНК. В таких условиях мРНК не может экспортироваться в цитоплазму. Это установлено методом количественной автордиографии. Благодаря этому новосинтезированная мРНК может и должна функционировать внутри ядра. Главный процесс, который происходит в клеточном ядре на этих стадиях, — это взаимное узнавание и спаривание гомологичных локусов. Микроскопия хромосом показала, что на этих стадиях мейоза хромосомы самцов млекопитающих организованы по тому же принципу, что и хромосомы типа «ламповых щёток» (см. гл. 6), но с латеральными микропетлями. Эти петли гомологичных хромосом контактируют между собой, например, на прелептотенной стадии (Velasquez-Nin et al., 2003, цит. по: Meiosis, 2009, Eds.

R. Benavente, J.-N. Volff). Но пока нет прямых доказательств связи этих полей микрорепетель с гомологичным узнаванием. Можно лишь вспомнить старые данные пионерских исследований молекулярной биологии мейоза 1960–70-х годов в лаборатории Герберта Стерна в США. Тогда на материнских клетках пыльцы лилии, синхронно проходящих длительную (несколько суток, см. гл. 8) профазу I мейоза, было установлено, что в ходе зиготены наблюдается синтез небольшого количества ДНК, относящейся к классу повторяющейся, сателлитной ДНК. Этот синтез Стерн и соавторы считали задержанной репликацией разбросанных по хромосомам локусов сателлитной ДНК и предполагали, что «недореплицированные» сегменты ДНК ответственны за взаимное узнавание хромосом и притяжение гомологичных локусов (см. Богданов, 1971; Ляпунова, Богданов, 1975). Но эта концепция не получила экспериментального подтверждения на других объектах и в настоящее время не развивается. Стерн считал, что во время зиготены и пахитены происходят массовые разрывы одной из двух полинуклеотидных нитей ДНК, и разорванные одностранные сайты ДНК гомологов образуют гибридные дуплексы ДНК так, как это предполагал Холлидей (см. гл. 4). Предполагалось, что с помощью гетеродуплексов, образующихся в зиготене, происходит синапсис соседних с ними локусов, а за счет пахитенных гетеродуплексов — кроссинговер. Но через несколько лет было установлено, что мейотическая эндонуклеаза рвет обе нити ДНК (см. гл. 4), и концепция Стерна была опровергнута. Имя Р. Холлидея, выдвинувшего в 1964 г. гипотезу рекомбинации путем образования гетеродуплексов ДНК, сохранилось в науке, а имя Г. Стерна забыто.

Следует разделять, с одной стороны, предположения о возможных механизмах узнавания гомологичных локусов в гомологичных хромосомах и относящиеся к ним факты, а с другой стороны — процесс тесного синапсиса гомологичных хромосом с помощью синаптонемных комплексов. В первом случае речь идет о взаимном узнавании локусов деконденсированных хромосом на дальних расстояниях (например, на расстояниях более 300–400 нм) и их взаимном притяжении с дальних расстояний. А во втором случае — о принудительном сближении гомологичных локусов в момент элонгации синаптонемных комплексов, которая происходит после того, как теломеры хромосом уже встретились на внутренней ядерной мембране (у животных при однонаправленном синапсисе от теломер к центромере), или когда произошло выравнивание интерстициальных сегментов хромосом (при «кнопочном» синапсисе и многолокусном формировании СК у растений, см. гл. 3). Когда СК уже начал строиться путем сближения осевых элементов хромосом, линейно расположенные гомологичные локусы двух хромосом принудительно выравниваются и сближаются.

Анализ надежности фактов — трудная задача, связанная с анализом надежности использованных методов и субъективной оценкой результатов, нередко зависящей от господствующих концепций (парадигм). Например, приведенный выше факт прекращения процесса синапсиса хромосом (прогрессии формирования СК) при подавлении синтеза ДНК не цитируется в публикациях XXI века. Это, возможно, объясняется общим негативным отношением к исследованиям Г. Стерна не столько из-за его ошибки в выборе гипотезы одностранных разрывов ДНК, как стартовых событий синапсиса хромосом, сколько тем, что на этой основе им была построена многоуровневая гипотеза узнавания с помощью «зиготенного синтеза ДНК». В тех работах по-

стулировалось, что у лилии происходит синтез особой фракции ДНК в области однонитевых разрывов ДНК, и эта «зиготенная» ДНК играет ключевую роль в синапсисе гомологичных хромосом и кроссинговера хромосом (Stern et al., 1975; Hotta, Stern, 1984). Изложение тех исследований есть и в старой русскоязычной литературе (Богданов, 1971, 1989; Ляпунова, Богданов, 1975; Босток, Самнер, 1981).

Концепция, общепринятая на международных конференциях в начале XXI века, состоит в том, что у хромосом большинства изученных организмов триггером синапсиса гомологичных локусов служат двунитевые разрывы ДНК (DSBs). Синапсис начинается с помощью инвазии однонитевых концов разорванной ДНК в гомологичные локусы, в которых «реципиентная» ДНК локально расплавляется (образуется небольшая смещающаяся петля, так называемая D-петля), после чего контакт гомологичных локусов происходит путем их временной ДНК-ДНК гибридизации (см. гл. 4, рис. 4.1). После такого акта в данном месте формируется СК: его латеральные элементы соединяются с помощью поперечных филаментов и центрального элемента. Все это описано в гл. 3 и 4, но есть «исключительные» организмы: нематода *C. elegans* (гл. 10) и дрозофила (гл. 11), у которых сначала формируется СК, а потом в фиксированном латеральными элементами месте происходят синапсис локусов и кроссинговер. Не исключено, что у этих организмов сохранился более древний механизм синапсиса или один из тупиковых (но для них удобных!) вариантов этого механизма.

Общепринято, что кластеризация теломер на мембране способствует сближению и синапсису гомологичных хромосом в профазе I мейоза (Zickler, Kleckner, 1998). На протяжении трех четвертей XX века во всех учебных руководствах писали, что в мейозе у растений, в отличие от животных и грибов, нет фигуры «букета» хромосом в мейозе (так же, как нет центриолей или полярных тел веретена). Считалось, что в профазе I мейоза у растений сближение хромосом с дальних расстояний обеспечено неким механизмом синезиса — сжатия хромосом в клубок или узел (synizetic knot, Rhoades, 1961), и эта конфигурация считалась альтернативой «букету» у животных (John, 1990). Однако, когда профазные ядра мейотических клеток растений стали исследовать с помощью электронного микроскопа и трехмерной реконструкции серийных ультратонких срезов, то оказалось, что во время ранней зиготены происходит кластеризация теломер на внутренней стороне ядерной мембраны. Впервые об этом сообщил датский цитолог Хольм, исследовавший этим методом профазу I мейоза у лилии (Holm, 1977). Вскоре это явление было обнаружено и у других видов растений (Gillies, 1984). В наиболее простом виде оно наблюдается как пучок теломерных районов синаптонемных комплексов на препаратах зиготенных ядер, разрушенных гипотоническим шоком и распластанных на подложке (рис. 3.1, б).

Существуют изящные доказательства генетического контроля формирования зиготенного букета хромосом у растений ржи (Mikhailova et al., 2001) и кукурузы (Golubovskaya et al., 2002). Известно, что у дрожжей тоже есть ген, который кодирует белок теломерных районов хромосом. Этот белок обеспечивает кластрирование теломерных районов (концов) хромосом на внутренней стороне ядерной оболочки в профазе I мейоза (Trelles-Sticken et al., 2000). У арабидопсиса также есть ген *ATM*, мутация которого приводит к нарушению кластрирования теломер на ядерной мем-

бране (Pandita et al., 1999 — Шертан). На первых этапах формирования зиготенного букета хромосом может происходить физическая ассоциация негомологичных хромосом, что наблюдалось у разных объектов (Loidl et al., 1994a). Но затем происходит коррекция синапсиса. Ассоциации негомологов способствует их принудительное сближение в «ножке» букета. При этом нередко образуются временные синаптонемные комплексы даже между негомологичными хромосомами. Они затем распадаются и формируются заново между гомологами (Zickler, Kleckner, 1998). Таким образом, кластрирование хромосом на ядерной оболочке в ранней профазе I мейоза и возникающий благодаря этому «букет» мейотических хромосом есть во всех царствах эукариот и, вероятно, это древний признак мейоза. Подробный анализ этого признака можно найти в обзоре (Zickler, Kleckner, 1998). Этот сложный признак, скорее всего, является полигенным. Не известно, есть ли гомология генов этого признака у дрожжей и высших растений, поэтому на данном этапе можно говорить лишь о том, что эти гены, по крайней мере функционально, аналогичны и приводят к «гомологии признака» в вавилонском смысле (Богданов, 2003, 2016), ибо у разных организмов существуют мутации, приводящие к нарушению кластеризации теломер на мембране.

В главе 3 сообщалось о том, что во время ранней профазы мейоза под электронным микроскопом обнаружены фибриллы ДНК между хромосомами. Они могут служить соединениями гомологичных локусов, но гомология локусов при таком методе не может быть доказана. На основе многочисленных и многолетних исследований молекулярных механизмов мейотической рекомбинации в сообществе генетиков считается, что синапсис гомологов происходит с помощью ДНК-ДНК гетеродуплексов после двунитевых разрывов и инвазии однострелевой ДНК в гомологичный локус другой хромосомы. Для этого необходимо идеальное выравнивание гомологичных хромосом и точное сопоставление гомологичных локусов в трехмерном пространстве клеточного ядра. Это достигается тем, что инициация рекомбинации и формирование СК идут «рука об руку», и некоторое опережение образования СК до инициации рекомбинации (у нематоды и дрозофилы — см. гл. 3 и 4) даже облегчает этот процесс.

В ранний период работы с использованием метода *in situ*-гибридизации ДНК было сообщение о том, что гомологичные локусы парных хромосом могут встречаться до построения синаптонемных комплексов у *S. cerevisiae* (Scherthan et al., 1992). Но позднее эти авторы более не упоминали об этом факте и, напротив, сообщили, что у мыши и человека синапсис идет только одновременно с построением синаптонемных комплексов (Scherthan et al., 1996).

## Заключение

Накануне ранней профазы мейоза и по её ходу хромосомы ремоделируются. Они приобретают продольные белковые оси, к которым крепится менее 1% ДНК, а остальная ДНК организована в виде латеральных петель хроматина.

В профазе мейоза происходит перепрограммирование транскрипции генома. По-видимому, идет синтез РНК, необходимой для мейоза и постмейотических стадий

гаметогенеза (и раннего эмбриогенеза: см. гл. 6). Наблюдается транскрипционная инактивация целых хромосом, в частности, половых хромосом у самцов животных (сайленсинг).

Способ сближения гомологичных хромосом с дальних расстояний до расстояния 300 нм, на котором между противоположащими локусами может формироваться синаптонемный комплекс, остается загадкой, хотя в теломерных районах сближение гомологов обеспечивается соседством их теломер на ядерной мембране. В сближении теломер участвует белок-белковое узнавание. У большинства эукариот во всех филогенетических линиях синапсис гомологичных локусов, судя по всему, происходит благодаря формированию временных ДНК-ДНК гетеродуплексов, которые образуются после двунитевых разрывов ДНК мейоз-специфичной эндонуклеазой. Этот механизм был описан в гл. 4. Исключения из этого правила обнаружены у эволюционно тупиковых организмов — нематоды и дрозофилы — и описаны в главах 10 и 11, соответственно.

## Глава 6.

# Особенности мейоза в ходе оогенеза

Последние этапы профазы I мейоза в ходе оогенеза у животных отличаются от мейоза при сперматогенезе. То же самое относится к мейозу женского типа при мегаспорогенезе у растений. В данной главе мы касаемся мейоза женского типа только у животных, а мейоз женского типа у растений описан в главе 7. Особенности женского мейоза у животных обусловлены подготовкой ооцита первого порядка к превращению в зиготу. Описаны типы транскрипционной активности хромосом ооцита, зависящие от типа гистологии яичников, и примеры формирования карисом и других специальных органелл ядра ооцитов. Приведены примеры изменения хронологии женского мейоза, обусловленные метаболизмом созревающего ооцита. Описана зависимость завершения делений мейоза от времени оплодотворения.

Главная причина различий мейоза в ооцитах и сперматоцитах состоит в том, что в ходе созревания ооцита (яйцеклетки) происходит подготовка этой яйцеклетки к начальному этапу эмбриогенеза. Поэтому еще во время мейоза в ооците происходит запасание «питательных веществ» (по старой терминологии), то есть долгоживущих молекул РНК, белков и других веществ, которые необходимы будущей зиготе. Заблаговременное накопление этих веществ важно потому, что первые клеточные деления зиготы происходят очень быстро, и клетки не имеют времени на транскрипцию ДНК и трансляцию мРНК. Иными словами, в ходе эволюции полового размножения произошла оптимизация сложной системы мейоза и раннего эмбриогенеза. Естественный отбор закрепил такой вариант мейоза при оогамном половом процессе, при котором генные продукты, необходимые для развития зиготы, заготавливаются заранее в ходе созревания неоплодотворенной яйцеклетки. В отличие от этого при изогамии (например, у дрожжей) подобных явлений нет, и нет различий мейоза, зависящих от пола (см. гл. 9).

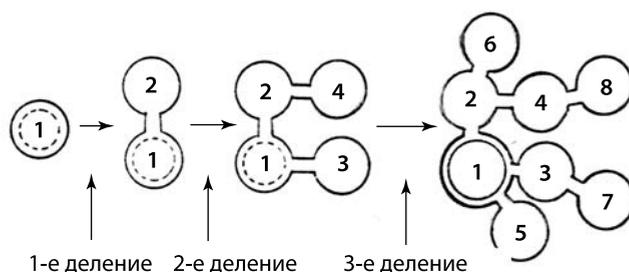
**В задачу данной главы входит не только описание отличий женского мейоза от мужского, но и разграничение явлений, обусловленных потребностями будущей зиготы, и собственных явлений мейоза.** Модификация цитологической картины мейоза происходит в ооците 1-го порядка, еще не вступившем в первое деление мейоза. Кроме того, у некоторых видов животных наблюдаются паузы по ходу мейоза между его первым и вторым делениями в ооците. Аналогичные явления происходят и в женском мейозе у растений. Они описаны в главе 7 «Мейоз у растений и его генетический контроль».

**Главное правило изменения женского мейоза по сравнению с мужским — в том, что эти модификации происходят после синапсиса и кроссинговера гомологичных хромосом и после формирования хиазм, необходимых для редукционного деления и сегрегации гомологичных хромосом, и поэтому они не мешают осуществлению кроссинговера и редукционного деления. До этапа об-**

разования хиазм, а именно, до начала стадии диплотены, мейоз в ооцитах морфологически и на молекулярном уровне не отличается от мейоза в сперматоцитах. В XX веке опубликовано много частных примеров изменения конденсации хромосом в оогониях и сперматогониях накануне их вступления в S-период премейотической интерфазы. При этом весьма характерно усиление конденсации хроматина оогониев в последнем митотическом цикле (Zickler, Klekner, 1998; Курило, 2012). Такое же явление имеет место в женском и мужском мейозе в разной степени у разных видов растений.

## Дифференцировка оогониев и появление ооцитов и трофоцитов

Среди низших беспозвоночных животных — у губок и некоторых плоских червей, например, Acoelomorpha — для дифференцировки яйцеклеток не нужны специальные органы, и яйцеклетки образуются в любых участках тела (Равен, 1964). Такой тип оогенеза называется диффузным. В противоположность этому у большинства беспозвоночных и позвоночных животных формирование женских половых клеток, а, следовательно, и мейоз происходят в специальных органах — яичниках. При обсуждении различий между диффузным и локализованным типами оогенеза речь идет не о различиях в мейозе или оогенезе как таковых, а о формировании органов, в которых развиваются ооциты, и поэтому для описания этих процессов более применим термин «овариогенез» — генезис органов, в которых происходит формирование яйцеклеток (Курило, 2012). Типы строения яичников описаны в специальных монографиях (Айзенштадт, 1984; Дондуа, 2005). Наглядным примером превращения оогониев в ооциты служит способ разделения оогониев на ооцит и трофоциты (питающие клетки) в овариолах тутового шелкопряда *Bombyx mori*. Яичники гусеницы шелкопряда состоят из трубочек — овариол. Овариолы состоят из яйцевых камер. В каждой яйцевой камере путем митоза из одной инициальной клетки образуется несколько оогониев, и некоторые из них развиваются по пути мейоза, превращаясь в ооциты. Дальнейшая судьба этих клеток различна: только одна из них становится ооцитом, способным пройти мейоз, в то время как остальные превращаются в трофоциты. Расхождение путей развития ооцитов и трофоцитов происходит после четвертого митоза инициальной клетки. После первого митоза одна клетка сохраняется как стволовая. Вторая клетка делится на два оогония, следующие два митоза приводят к появлению восьми оогонияльных клеток. Две из них превращаются в ооциты 1-го порядка и вступают в профазу I мейоза, но только один ооцит проходит весь мейоз до конца, останавливаясь на время в развитии на стадии диплотены в период большого роста (в вителлярии). Шесть оогониев и один из ооцитов (его иногда называют про-ооцитом) превращаются в трофоциты (Sakagushi, 1978). Выбор ооцита, способного продолжить мейоз, определяется строгим цитоплазматическим механизмом. Этот механизм был сначала расшифрован на примере яичников дрозофилы (см. гл. 11), а затем обнаружен и у тутового шелкопряда.



**Рис. 6.1.** Схема делений клеток зародышевого пути у самок тутового шелкопряда *Bombyx mori*. Номера клеток соответствуют времени их появления после очередного клеточного деления. Пунктирной окружностью обозначен оогоний, двойной окружностью (круг в круге) — ооцит (из Sakagushi, 1978, с изменениями).

Механизм выбора «успешного» ооцита у шелкопряда и дрозофилы таков: после каждого деления оогониев путём митоза разделение дочерних клеток (цитотомия) с помощью перетяжки цитоплазмы не доходит до конца, и на месте веретена деления между сестринскими клетками остаются цитоплазматические кольцевые каналы. В восьмиклеточном кластере у шелкопряда четыре клетки получают по одному каналу, две клетки — по два канала и две клетки — по три канала (рис. 6.1). Клетки, имеющие по три канала, становятся у шелкопряда ооцитами, и мейоз в них развивается до стадии пахитены одинаково, но, начиная со стадии диплотены, по мейотическому пути развивается и вступает в деления мейоза только один из этих двух ооцитов (Sakagushi, 1978).

Процессы, описанные для шелкопряда, характерны и для других животных с нутринтарным типом оогенеза, хотя такая классификация типов оогенеза устарела, и от нее постепенно отказываются. Предлагается использовать термин «полигеномный» тип оогенеза (Дондуа, 2005). При этом типе развития ооцит нуждается в притоке РНК, прежде всего рРНК.

**Кольцевые каналы между оогониями — широко распространенное явление, присущее не только насекомым, но и другим беспозвоночным животным (Cassidy, King, 1969). Роль кольцевых каналов в процессах дифференцировки половых клеток разных групп животных аналогична их роли у шелкопряда и дрозофилы.**

В монографиях Айзенштадт (1984), Л.Ф. Курило (2012) и Дондуа (2005) приведены примеры устройства яичников многих животных. Анализ этих примеров даёт основание считать, что в ходе овариогенеза яичники разных животных проходят стадии развития, напоминающие более примитивные варианты яичников других, менее эволюционно продвинутых животных. Иными словами, существует общая схема формирования яичников, которая осуществляется частично или полностью в зависимости от уровня сложности (филогенетического положения) организма.

Примером, на котором можно проследить фазы развития яичников млекопитающих, служит овариогенез человека и коровы, детально изученный Курило

(1980а, б, в; 1985, 2012). Формирование яичника начинается во время развития эмбриона женского пола и доходит до полного развития к моменту рождения организма женского пола. Однако появление яйцеклеток, готовых к оплодотворению, происходит только после достижения половой зрелости. Л.Ф. Курило на основе собственных многолетних исследований и с учётом исследований других авторов пришла к весьма обоснованному выводу, что начальный период развития яичников у человека и, вероятно, всех млекопитающих можно разделить на три фазы.

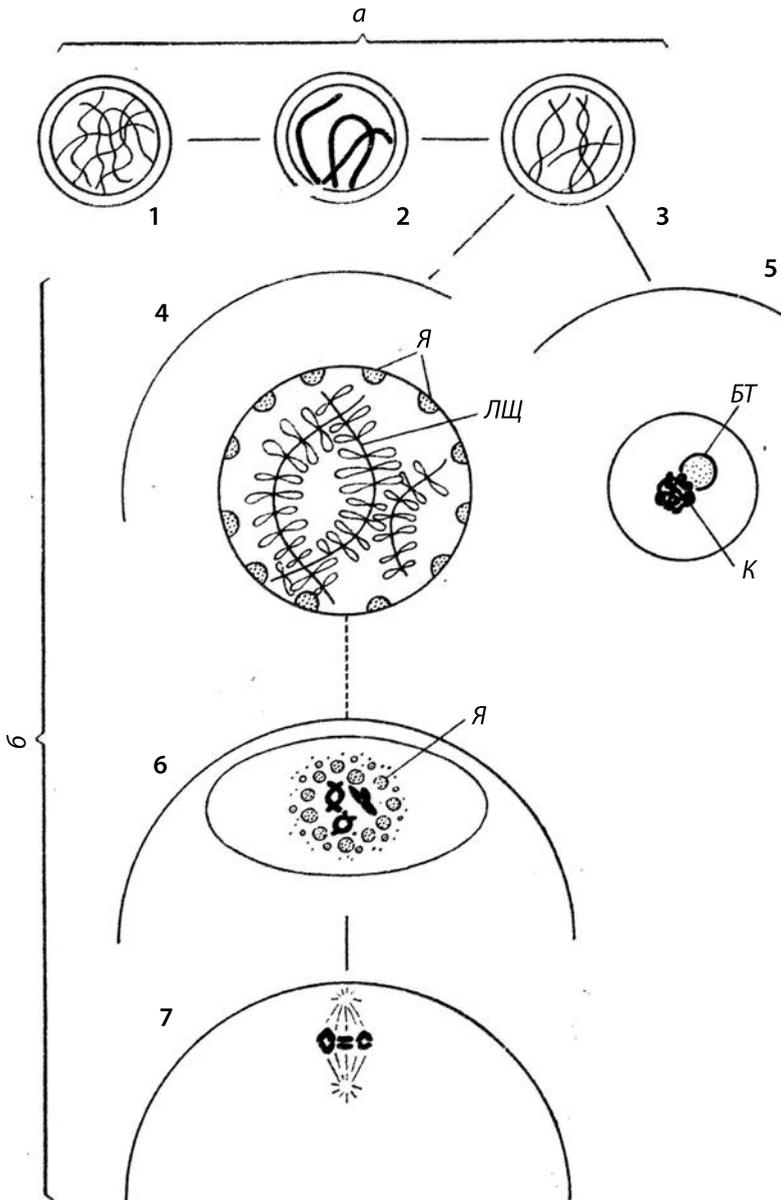
1-я фаза: заселение первичных половых валиков эмбриона первичными половыми клетками — предшественниками оогониев — и клетками мезенхимы, происходящими из мезонефроса.

2-я фаза: пролиферация (размножение) первичных половых клеток, создание пула этих клеток, превращение их в оогонии, затем превращение в ооциты 1-го порядка путём вступления их в профазу I мейоза. У женского эмбриона человека на 4-м месяце беременности матери общее число первичных половых клеток составляет 2–4 миллиона, а по данным некоторых авторов — до 7 млн. (Курило, 2012). На этой же стадии формируется сложное гистологическое строение яичника. В яичнике разрастается так называемое мозговое вещество (гистологический термин, не имеющий отношения к нервной ткани и мозгу). Оно пронизывается кровеносными сосудами и тяжами соединительной ткани, образующими строму.

3-я фаза: заселение стромы яичника ооцитами. В ней образуются «яйценозные тяжи», содержащие гнёзда клеток, более или менее синхронно проходящих первые этапы профазы I и вступающих в стадию диплотены. Это происходит на 17-й неделе беременности. После этого начинают исчезать гнёзда ооцитов, диплотенные ооциты обособляются и окружаются фолликулярными клетками. На 26–27-й неделях беременности у человека полностью развита структура фолликулов индивидуальных ооцитов, окруженных фолликулярной оболочкой из мелких клеток. К концу 26-й недели беременности у эмбриона человека не остаётся половых клеток, не вовлеченных в фолликулы. В этих фолликулах ооциты остаются до момента овуляции — освобождения ооцита из яичника. При этом ооцит находится в состоянии временной задержки мейоза на стадии метафазы I и доступен для оплодотворения сперматозоидом.

## Особенности мейоза в ходе оогенеза

*Морфология поздних этапов профазы I мейоза в ооцитах.* Итак, схема поведения хромосом в ходе женского мейоза (оогенеза) до определенного момента, а именно, до завершения стадии пахитены и образования хиазм, одинакова со схемой мейоза при сперматогенезе животных или микроспорогенезе растений. Ооциты 1-го порядка при световой и при электронной микроскопии не отличаются от сперматоцитов 1-го порядка до стадии поздней пахитены. Редкие исключения относятся к некоторым насекомым, например, двукрылым (Diptera) или чешуекрылым (Lepidoptera). Они связаны с особенностями наследования пола у этих насекомых и будут описаны в главах 11 и 12.



**Рис. 6.2.** Соотношение стадий мейоза и оогенеза.

а — период малого роста, б — большой рост; 1 — ранняя профза I мейоза, 2 — пахитена, 3 — диплотена, хиазмы, 4 — ооцит солитарного типа с хромосомами-ламповыми щётками (ЛЩ); 5 — ооцит с кариосферой (К) при нутриментарном (полигеномном) типе оогенеза, Я — ядрышки, БТ — белковое тело (термин употребляется только в отношении птиц); 6 — диакинез при любом типе оогенеза; 7 — метафаза I. По: Грузова, 1975.

Начиная со стадии диплотены, морфология и динамика развития мейоза в ооцитах животных существенно изменяется по сравнению с мейозом при сперматогенезе и микроспорогенезе. Подсчитано, что в ооцитах лягушки *Xenopus* транскрибируется приблизительно  $1,1 \times 10^{12}$  молекул рибосомной РНК, из них для собственных нужд растущего ооцита расходуется лишь 5% молекул (то есть  $5 \times 10^{10}$ ), остальные запасаются для развития зиготы (Дэвидсон, 1972; Грузова, 1975). Такая «заготовительная кампания» требует значительной паузы в развитии хромосом ооцита по пути мейоза, перерыва в подготовке к редукционному делению хромосом; происходит временный переход ооцитов к активному метаболизму клеточного ядра, близкому к метаболизму интерфазного ядра соматических клеток. Пауза в развитии мейоза наступает на стадии диплотены женского мейоза, и с этой стадии начинается дифференцировка ооцита животных и мегаспоры растений в сторону превращения их в женские гаметы. Всё это ведет к структурной реорганизации хромосом растущего ооцита. В результате реорганизации развитие мейоза в ооцитах затягивается и усложняется, ибо в это развитие вклиниваются процессы, побочные по отношению к собственно мейозу.

Развитие ооцита 1-го порядка во время лептотены, зиготены, пахитены (у некоторых организмов даже ранней диплотены) мейоза обозначают как период превителлогенеза или малого роста ооцита. Со стадии диплотены начинается период вителлогенеза, он же — период большого роста ооцита (рис. 6.2).

Во время большого роста ооцита размер его цитоплазмы увеличивается в сотни и тысячи раз (у разных биологических видов в разной степени). На этом этапе женского мейоза хромосомы существенно деконденсируются, и идет транскрипция многих генов. Однако существует два **альтернативных** пути дальнейшего развития событий. Они определяются разными способами накопления запасных веществ в ооците. Это солитарный и нутриментарный (гипертранскрипционный и полигеномный — по Дондуа, 2005) способы **развития и роста ооцитов**. При солитарном способе хромосомы ооцита сами обеспечивают ооцит пулом РНК и белков за счет активной транскрипции генома. Наиболее выраженным типом солитарно питающегося ооцита является ооцит с хромосомами типа ламповых щеток (ЛЩ). Эти хромосомы образуются во время стадии диплотены. Они активно транскрибируют РНК. Таковы диплотенные ооциты амфибий, рептилий и птиц. Стадия диплотены с хромосомами-ламповыми щётками у амфибий, рептилий и птиц длится днями и неделями (Callan, 1986; Macgregor, 2012). На рис. 6.2 приведено схематическое соотношение стадий мейоза и оогенеза.

## Стадия диплотены при солитарном типе развития ооцита

**Хромосомы – ламповые щётки.** Хромосомы типа ламповых щёток (ЛЩ) впервые были выявлены в 1882 г. Флеммингом (W. Flemming) и получили свое современное название в публикации Рюккерта (J. Rückert), который в 1892 г. обнаружил их в ооцитах акулы (цит. по: Gaginskaya et al., 2009) и нашел их, в миниатюре, внешне похожими на щётки, которыми чистили стекла ламп в XIX веке, когда для освещения использовали фитили с горящим маслом (подобие керосиновых ламп, известных на-



**Рис. 6.3.** Хромосома типа ламповой щётки земноводного *Salamandra salamandra* L. Это диплотенный бивалент хромосомы 2 саламандры (схематическая зарисовка под малым увеличением микроскопа). L и R — левый и правый концы хромосом, соответственно.

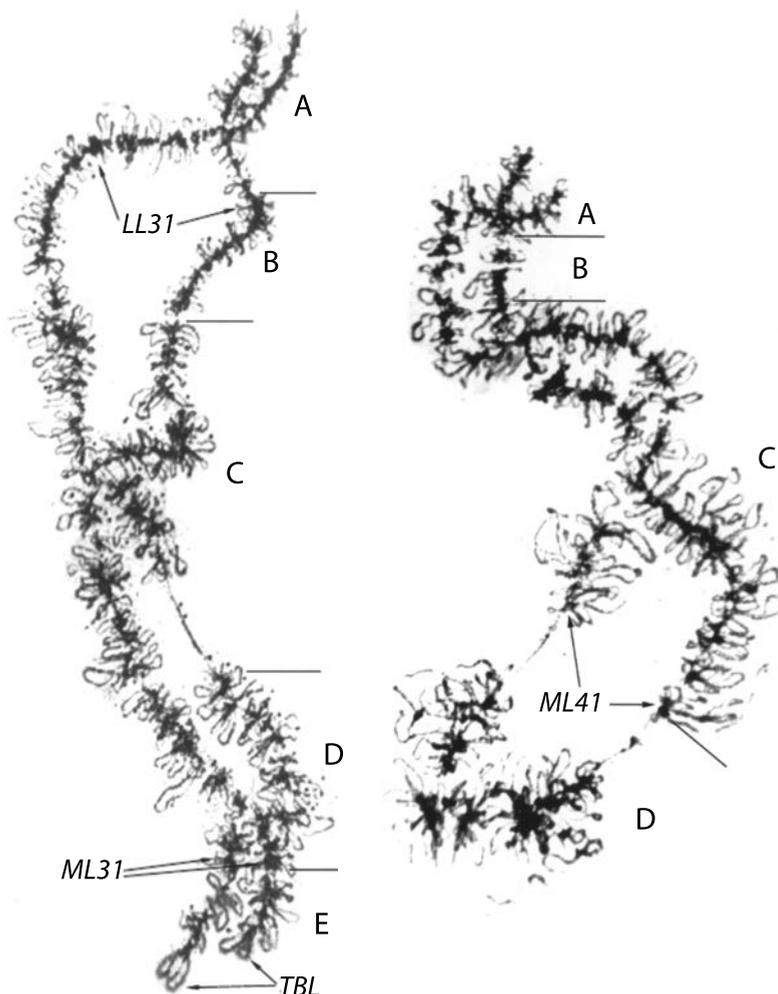
По: Mancino et al., 1969, из Кикнадзе, 1975.

шему старшему поколению XX века). Хромосомы – ламповые щётки найдены в ооцитах амфибий, рептилий, птиц, некоторых насекомых (рис. 6.3, 6.4). Кроме того, Y-хромосома в сперматоцитах у *Drosophila hydei* тоже подобна ламповой щётке. На примере хромосом-ЛЩ изучают фундаментальную структуру хромосом (Родионов и др., 1992а, б; Gaginskaya et al., 2009; Macgregor, 2012). Важно отметить две особенности хромосом типа ЛЩ: (1) у них ярко выражена хромомерно-петельная организация (чередование конденсированных хромомеров с выраженными латеральными петлями деконденсированных сестринских хроматид); (2) эти хромосомы имеют большие размеры и часто именуется гигантскими. У саламандры *Ambystoma mexicanum* абсолютная длина набора хромосом-ЛЩ превышает длину набора митотических хромосом в 80 раз, у гребенчатого тритона *Triturus cristatus carnifex* — в 25 раз (Callan, 1986), у птиц разница составляет около 33 раз (Чельшева и др. 1990).

Хромосомы-ЛЩ богаты морфологическими маркёрами. Это характерные для каждого вида организмов латеральные петли хромосом, по-разному расположенные на хромосомах относительно центромер и теломер, разная длина и структура петель. Бывают транскрибирующиеся петли, покрытые так называемым «матриксом» из РНП. Матрикс содержит новообразованную РНК и ассоциированные с ней белки. Петли бывают гладкие и тонкие, не транскрибирующие РНК. Существуют петли из конденсированного хроматина, имеющего особую гранулярную форму, и другие маркёры хромосом-ЛЩ, образованные сочетанием петель и хромомеров. Как правило, на хорошо расправленных хромосомах-ЛЩ хорошо видны хиазмы, и их подсчёт и определение локализации несравненно более точны, чем в клетках на стадиях диакинеза или метафазы I (Родионов и др., 1992а, б; Rodionov et al., 2002).

Существует техника прижизненной изоляции хромосом из ядер ооцитов и работы с ними в специальных камерах под микроскопом (Callan, 1986; Родионов и др., 1992а, б).

Капитальная монография о хромосомах-ЛЩ опубликована Кэлланом (Callan, 1986), и существуют более современные обзорные публикации (Morgan, 2002;

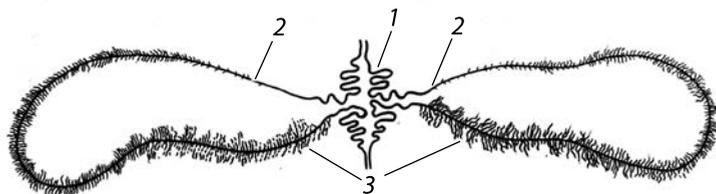


**Рис. 6.4.** Микрофотографии хромосом-ЛЩ курицы *Gallus gallus* L.

Слева — ЛЩ-3, справа — ЛЩ-4. Хромосомы окрашены «Кумаси синим R250».

Обозначены хромосомные районы, маркерные латеральные петли (LL31, ML31, ML41) и хромеры (Галкина, 2002, оригиналы предоставлены С.А. Галкиной).

Gaginskaya et al., 2009). В данной главе нас интересует не столько структура этих хромосом, отличающаяся от типичной структуры хромосом в диплотене мейоза у самцов, сколько функция этих хромосом в оогенезе. Эта функция хромосом-ЛЩ вынуждает ооциты по ходу мейоза временно отложить подготовку к редукционному делению хромосом (к метафазе I и анафазе I) и «заняться» обеспечением условий для быстрых делений оплодотворенного яйца — зиготы. Тем не менее, мы должны хотя бы кратко описать структуру хромосом-ЛЩ. Как уже упоминалось



**Рис. 6.5.** Зарисовка симметричных латеральных петель хромосомы-ЛЩ из ооцита саламандры.

Это одна из двух хромосом бивалента, и латеральные петли — это петли сестринских хроматид. 1 — хромомер, 2 — сестринские хроматиды, 3 — РНК-транскрипты.

С изменениями из нескольких авторов 1970-х гг.

(гл. 5), даже в ходе сперматогенеза на стадии пахитены латеральные петли хромосом наблюдаются и у самцов млекопитающих, но они выражены несравненно меньше, чем в ооцитах. **Истинные хромосомы-ЛЩ — это биваленты хромосом на стадии диплотены во время оогенеза, когда гомологичные хромосомы соединены только хиазмами**, отсутствуют белковые хромосомные оси или латеральные элементы СК. *В хромосомах-ЛЩ гомологичные хромосомы имеют ярко выраженные латеральные петли, чередующиеся с конденсированными хромомерами. Каждая из двух гомологичных хромосом в составе ЛЩ («полубивалент») имеет две латеральные петли. Они принадлежат сестринским хроматидам одного полубивалента (второй полубивалент имеет аналогичные сестринские петли в гомологичном локусе)* (рис. 6.5).

На плоском микроскопическом препарате эти сестринские латеральные петли направлены в противоположные стороны, и это, возможно, соответствует их противоположной направленности в трехмерном пространстве ядра ооцита (но не обязательно под углом  $180^\circ$ , как на плоском препарате). Хромомеры представляют собой плотно конденсированный хроматин. На основе многолетних наблюдений Кэллан пришел к выводу, что «хромомерный паттерн (рисунок) **хромомеров** гомологичных хромосом редко бывает идентичным, что удивительно, учитывая высокую видовую специфичность рисунка хромомеров (дисков) политенных хромосом у *Diptera*» (Callan, 1986; Macgregor, 2012). Кэллан изучал тритонов, выловленных в природе. Такие экземпляры могут быть гетерозиготными по аллелям разных генов и даже по микроинверсиям, и это может быть причиной изменчивости рисунка петель у гомологичных хромосом.

Латеральные петли ЛЩ лишены гистона H1 и покрыты серией транскрипционных комплексов, несущих РНК-полимеразу II, и растущими транскриптами — молекулами РНК. Каждая серия транскрипционных комплексов с растущими на них транскриптами представляет собой одну транскрипционную единицу. Под просвечивающим электронным микроскопом на специально приготовленных препаратах такая транскрипционная единица выглядит как вертикальная половина «ёлочки»: короткие транскрипты — начало элонгации растущей молекулы РНК — это макушка «ёлочки», а длинные молекулы РНК — основание «ёлочки». Как сказа-

но выше, один комплекс РНК-транскриптов соответствует одной транскрипционной единице, но длинные латеральные петли хромосомы могут содержать от одной до нескольких транскрипционных единиц, причём направление транскрипции может быть противоположным в пределах одной петли. Исторически осуществление транскрипции РНК на латеральных петлях амфибий было доказано в 1970-х годах несколькими авторами и разными методами (Davidson, Hough, 1971; Макаров, Сафронов, 1974; обзоры Callan, 1986; Gaginskaya et al., 2009).

Некоторое время в публикациях о транскрипционной активности ЛЩ распространялось мнение о том, что массовая транскрипция РНК, в том числе с некодирующих ДНК-сателлитных последовательностей, является непродуктивной, лишённой смысла (Macgregor, 1982; Angelier et al., 1996). Однако позднее на смену такому мнению пришло подтверждение точки зрения о важности этой транскрипции как источника РНК разных типов, необходимых для раннего эмбриогенеза, и появились обоснования такого мнения. Такая гипотеза основана на факте синтеза хромосомами-ЛЩ большого количества молекул поли-мРНК (которые затем подвергаются специфической посттранскрипционной модификации), а также некодирующих вариантов полиаденилированной РНК.

В результате были открыты две формы запасаемых впрок молекул РНК: РНК, кодирующая белки, и некодирующая РНК. Известен пример такой массовой транскрипции гистоновых генов хромосомами-ЛЩ, когда транскрибируемая РНК превращалась или не превращалась в кодирующую форму в зависимости от присутствия в ооците специфических факторов, необходимых для этого (Masi, Johnson, 2003). Эти факторы могут появляться после оплодотворения, очевидно, в результате активации диплоидного генома зиготы.

Установлено, что при транскрипции хромосом-ЛЩ появляется много РНК-транскриптов повторяющейся, в том числе сателлитной, ДНК. При этом транскрибируются обе нити сатДНК. Эти РНК-транскрипты гибридизуются («отжигаются») в двуспиральную РНК (dsRNA), которая хранится до появления зиготы и после процессирования в ходе эмбриогенеза может превращаться в малые интерферирующие РНК (Matzke, Birchler, 2005; Prasanth, Spector, 2007). Есть гипотеза о том, что некодирующая малая интерферирующая РНК, которая также транскрибируется с хромосом-ЛЩ, после возникновения зиготы участвует в кодировании сателлитной ДНК прицентромерных районов хромосом зиготы (Krasikova et al., 2006) и в сборке самих центромер хромосом эмбриона (Deryusheva et al., 2007).

Вблизи центромер хромосом-ЛЩ у птиц всегда формируются округлые белковые тела, они являются внехромосомными структурами, но настолько обязательны для ЛЩ птиц, что их нарицательное название стало их именем собственным — Protein bodies (PB). Их диаметры варьируют от 1 мкм у птиц семейства Куриных до 20 мкм в семействе Голубиных. Эти белковые тела содержат соматические когезины STAG2 и RAD21, вероятно, вытесненные из хромосом мейотическими когезинами, в частности, когезином REC8. Белковые тела содержат также белки группы SMC и наиболее массовый белок латеральных элементов синаптонемных комплексов — SCP3/SYCP3. Стоит напомнить, что на стадии, когда сформированы ЛЩ, синаптонемных комплексов уже нет. По-видимому, белок SCP3/SYCP3, который наиболее обилен в латеральных элементах СК, после распада СК депонируется в этих

белковых телах. Кроме того, в белковых телах обнаружена ДНК-топоизомераза II. Установлено, что белковые тела после завершения существования ЛЩ и при переходе ядра ооцита к стадии кариосферы объединяются в центральное тело, с которым связаны конденсированные хромосомы; в первую очередь, центромерные районы хромосом удерживаются на поверхности белковых тел (Gaginskaya et al., 2009). Внутриядерные тельца, аналогичные РВ птиц, обнаружены и у некоторых хвостатых амфибий (Callan, 1986; Gall, 1992). К концу первого десятилетия XXI века они оставались менее изученными (Gaginskaya et al., 2009).

### **Стадия диплотены (диктиотены) при нутриментарном типе оогенеза**

При нутриментарном типе оогенеза рост ооцита осуществляется благодаря его контактам со специализированными питающими клетками (англ. nurse cells) — трофоцитами. При этом стадия диплотены (диктиотены) длится от нескольких дней (у мелких грызунов) до многих лет (у крупных млекопитающих и человека). У человека профазы I женского мейоза проходит во внутриутробном периоде развития эмбриона женского пола.

Первые ооциты переходят на стадию лептотены профазы I мейоза на 11 неделе беременности будущей матери (Курило 1985, 2012). Диктиотена впервые появляется в ходе развития эмбриона женского пола на 19–22-й неделе беременности будущей матери. Нормальная беременность у женщин длится в среднем 40 недель. На 40-й неделе беременности ооциты составляют  $92 \pm 1,9\%$  всех половых клеток (из них  $62,5 \pm 5,4\%$  — ооциты на стадии диплотены), а на стадии оогониев еще остаётся  $8 \pm 2,4\%$  половых клеток, не вступивших в мейоз. 40-я неделя беременности — предельный срок, на котором в серии данных исследований удавалось исследовать биологический материал эмбрионов человека (Курило, 1985, 2012).

По мере созревания индивидуальных ооцитов плода диплотенная и диктиотенная стадии продолжают продолжаться после рождения девочки вплоть до конца репродуктивного периода женщины — до 40–50-летнего возраста.

При нутриментарном типе оогенеза хромосомы также сильно деконденсированы. У некоторых организмов с нутриментарным типом ооцитов есть слабо выраженные хромосомы — ламповые щетки. У большинства организмов с нутриментарным типом оогенеза ядра ооцитов на стадии ранней диктиотены внешне напоминают интерфазное ядро, заполненное сетью нитей хроматина (dictios — сеть), но диктиотенное ядро превосходит в размерах все ядра: как ядра первичных оогониев, так и самые крупные пахитенные ядра того же самого организма.

В ооцитах насекомых с нутриментарным типом оогенеза диплотенные-диктиотенные хромосомы довольно быстро начинают конденсироваться и выключаются из метаболизма. Происходит «сайленсинг», «замалчивание» транскрипционной активности хромосом (см. также гл. 5). Это происходит, если угодно, «механическим» путём: весь хромосомный набор изолируется от большей части кариоплазмы. Хромосомы ооцита оказываются заключёнными в специфический внутри-

ядерный компартмент — кариосферу. Кариосфере посвящен специальный раздел этой главы.

Кариосфера образуется не только при нутриментарном, но и при солитарном типе развития ооцита, однако после завершения функционирования хромосом-ламповых щёток и накануне перехода ооцита в стадию диакинеза.

При любом из вариантов развития ооциты с видоизмененной диплотеной — ооциты с хромосомами-ЛЩ либо диктиотенные ооциты с кариосферой, или окруженные трофоцитами, или (в телотрофных яичниках насекомых) ооциты, связанные с трофоцитами «трофическими тяжами», — переходят рано или поздно в стадию диакинеза и далее в прометафазу I и метафазу I.

## **Кариосфера/кариосома и сайленсинг хромосом в оогенезе**

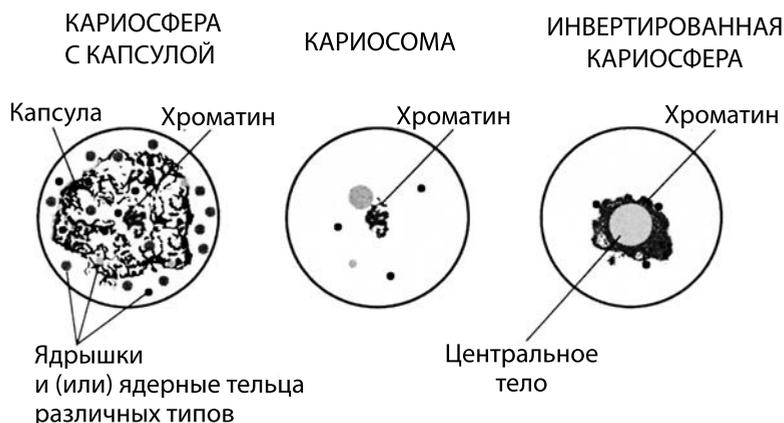
В оогенезе многих беспозвоночных и позвоночных животных развивается значительное число трофоцитов, которые снабжают ооцит рибонуклеиновыми кислотами, поэтому собственные хромосомы ооцита выключаются из синтеза РНК и переходят после истинной диплотены или диктиотены в относительно конденсированное состояние. Такие хромосомы объединяются в общий клубок, кариосферу (кариосому). Внутри кариосферы хромосомы иногда оказываются в состоянии перехода из диктиотены в диакинез, и в таком случае у некоторых видов животных могут еще не достигать морфологической обособленности, характерной для бивалентов во время классического диакинеза.

**Кариосфера (кариосома) — это тесное скопление хромосом в ограниченной части крупного ядра ооцита в период его «большого роста». У разных организмов кариосфера возникает в разные периоды стадии диплотены. Функция кариосферы — инактивация, «сайлесинг» транскрипционной активности хромосом.**

Одним из возможных способов соединения хромосом в кариосферу может оказаться наличие межхромосомных связей при помощи тонких нитей ДНК. Эти связи имеют место ещё до мейоза между всеми хромосомами набора в метафазных пластинках оогониев (Грузова, 1975) и иногда отчетливо наблюдаются между хромосомами на стадии ламповых щёток (Gaginskaya et al., 2009). Эти же нити ДНК могут привести к тесному объединению хромосом в кариосферу.

Кариосфера распространена в разных филогенетических ветвях животных и морфологически «многолика» (Bogolyubov, 2018). Нередко кариосферой называют скопление хромосом, покрытое своеобразной оболочкой или капсулой, однако у некоторых видов животных капсула отсутствует, и тогда скопление хромосом иногда именуют не кариосферой, а кариосомой. Это весьма условное разделение способов концентрации инактивированных хромосом в завершающем периоде большого роста ооцита.

**Описано три морфологических типа кариосфер (Bogolyubov, 2018): (1) кариосфера без оболочки, и именно этот тип чаще называют кариосомой; (2) кариосфера с оболочкой (капсулой), изолирующей хромосомы от большого объема кариоплазмы крупного ядра ооцита, и (3) кариосфера с хромосомами, прикре-**



**Рис. 6.6.** Основные типы кариосферы.

По: Боголюбов, 2018, с изменениями; публикуется с разрешения редакции журнала «Цитология».

пленными снаружи к «центральному телу», — «инвертированная» кариосфера (которая тоже может быть названа кариосомой) (рис. 6.6). В последнем случае некое центральное тело, которое находится внутри кариосферы/кариосомы, имеет экстрахромосомную природу (Боголюбов, 2018).

Кариосфера была открыта в начале XX века Блэкманом (Blackman, цит. по: Bogolyubov, 2018) и долгое время оставалась на периферии внимания исследователей мейоза. Начиная с 1960-х годов, она постепенно подвергалась исследованию в Ленинградской-Петербургской школе исследователей оогенеза, созданной патриархом отечественной цитологии гаметоге-неза И.И. Соколовым (обзоры: Грузова, 1975; Gruzova, Parfenov, 1993; Bogolyubov, Parfenov, 2008; Bogolyubov, 2018; Боголюбов, 2018).

Всего кариосфера/кариосома описана более чем у 120 видов беспозвоночных и позвоночных животных, относящихся к 4 типам животных (Gruzova, Parfenov, 1993). Степень изученности кариосферы как регулярного явления в развитии ооци-та далеко не полная. Однако отмечено весьма важное правило: микроскопическая и ультраструктурная организация кариосферы может существенно различаться даже у близких видов одного рода (Bogolyubov, 2018; Боголюбов, 2018).

Наиболее изучена относительно просто организованная кариосома дрозофилы *D. melanogaster*. Это типичная кариосома без капсулы. Кариосома дрозофилы — это тельце, состоящее из хроматина, ДНК которого окрашивается по Фёлгену на дезоксирибозу или флуоресцентным красителем DAPI и антителами к ДНК. Кари-осома у дрозофилы формируется на 9–10-й стадии развития ооцита (по классифи-кации Кинга: King, 1970a), то есть весьма рано — на границе пахитены и диплоте-ны, сразу после завершения рекомбинации и восстановления двухцепочечных раз-рывов ДНК, после снижения (но не полного прекращения) включения  $^3\text{H}$ -уридина в хромосомы. Диаметр ядра ооцита в это время равен 20 мкм, а диаметр компактной кариосомы составляет всего 1,5–2 мкм. При этом у *D. melanogaster* выявлено око-

ло двух десятков генов, контролирующих развитие кариосомы, и установлено, что мутации этих генов приводят к нарушению хода оогенеза и в большинстве случаев к стерильности мух (см главу 11).

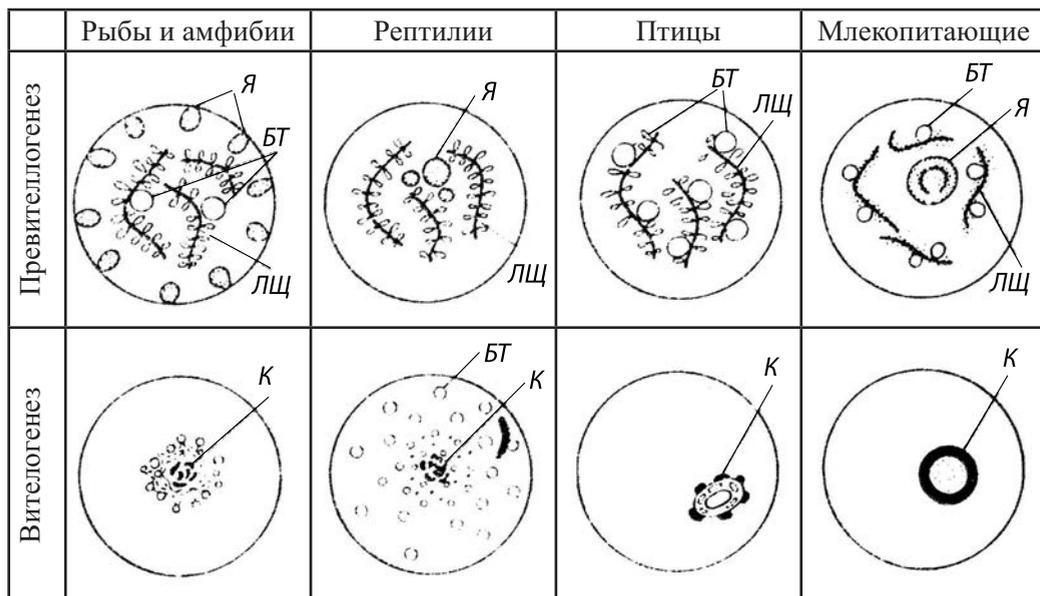
Кроме кариосомы, в ядрах ооцитов дрозофилы обнаружены и другие, но экстрахромосомные включения. Это сферические тела диаметром около 1,5 мкм. Они имеют гладкий контур и содержат тонкие волокна. Их именуют тельцами Кахаля (Liu et al., 2006). Они существуют на стадиях 3–8 оогенеза дрозофилы, но рассыпаются на более мелкие тельца на стадии 10 оогенеза. В тельцах Кахаля у *Drosophila* зарегистрированы маркёры, типичные для этих структур не только у насекомых: тельца Кахаля — универсальные структуры. РНК, обозначаемая как «типичная для тельца Кахаля», это так называемая scaRNA. Кроме того, она не одна, присутствуют ещё малая ядерная РНК (snRNA) и некоторые маркерные белки (Liu et al, 2006; Bogolyubov, 2018). Аналогичный комплекс — кариосома без капсулы и ассоциированное с ней тельце Кахаля — обнаружен в ооцитах у других Diptera, у гидры и пиявки (обзоры: Bogolyubov, 2018; Боголюбов, 2018).

Хромосомы, составляющие кариосферу, могут быть ассоциированы с разнообразным экстрахромосомным материалом, но в строгом смысле термин «кариосфера» рекомендуется (Bogolyubov, 2018) применять только к скоплению метаболически инертных (инактивированных) хромосом, которое, если есть капсула, представляет собой подобие инактивированного «ядра в ядре» (Innenkern старых немецких авторов) (обзор: Gruzova, Parfenov, 1993; в этом обзоре есть таблица с разными историческими терминами). Хромосомы могут сохранять индивидуальность, но могут сливаться в конгломерат хроматина. Во время формирования кариосферы происходит ремоделирование хроматина, которое контролируется эпигенетическими механизмами, включающими ферменты, модифицирующие гистоны (Bogolyubov, 2018).

**Капсула кариосферы.** Структура капсулы кариосферы вариабельна. Капсула кариосферы может быть однослойной и многослойной. Появление кариосферы может быть приурочено к любому интервалу времени внутри стадии диплотены в зависимости от специфики оогенеза данного биологического вида. У насекомых кариосфера образуется, как правило, рано; у многих Diptera хромосомы, минуя стадию диктиотены, сразу же объединяются в общий клубок уже в конце пахитены или в самом начале диплотены. Есть случай, когда кариосфера формируется после кратковременного существования «ламповых щеток», например, у пилильщика (Боброва, Грузова, 1967) или у жуков из рода *Blaps* (Грузова, 1975; Gruzova, Parfenov, 1993).

В противоположность насекомым, у позвоночных животных — амфибий, рептилий и птиц — кариосфера возникает после стадии «ламповых щеток», когда основная масса РНК в ооците уже синтезирована хромосомами (рис. 6.7). Тогда внутри ядра, на поверхности кариосферы, появляются новосинтезированные белковые структуры и гранулы (Гагинская, 1972; Грузова, 1975; Боголюбов, 2018). Они образуют подобие рыхлого (не сплошного) слоя, несколько ограждающего клубок хромосом (собственно кариосферу) от кариоплазмы растущего в размерах ядра ооцита.

При рассмотрении в световом микроскопе кариосферы с капсулами были обнаружены в ооцитах некоторых насекомых и лягушек (Грузова, 1975). При созревании ооцитов капсулы сохраняются вплоть до метафазы I. Долгое время оставалось



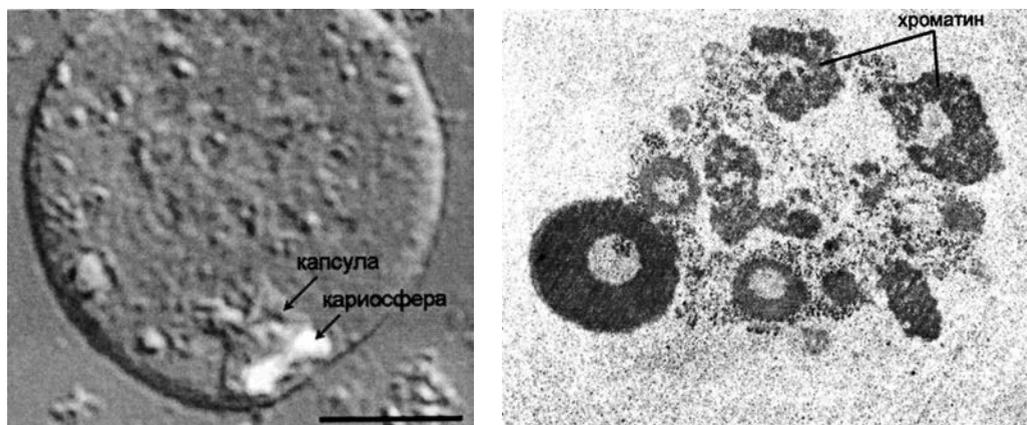
**Рис. 6.7.** Изменение морфологии и функции хромосом во время стадии диплотены, при переходе от малого роста ооцита к большому росту у разных позвоночных животных. БТ — белковые тела, ЛЩ — хромосомы — ламповые щётки, Я — ядрышки, К — кариосфера. По: Грузова, 1975.

неясным, какова природа этих своеобразных капсул, каково их функциональное назначение. Частично ответы на эти вопросы были получены при помощи электронного микроскопа. Оказалось, что у комаров в построении капсулы кариосферы могут участвовать белковые элементы синаптонемных комплексов. В ооцитах комара *Culex fatigans*, на стадии диплотены, после отторжения нормальных синаптонемных комплексов от хромосом, в ядрах ооцитов остаются подобные им комплексы, но уже не в виде отдельных линейных трехполосных структур между гомологичными хромосомами, а в виде пластов гигантских структур, которые обнаруживший их автор (Roth, 1966) назвал поликомплексами. Картина постепенного формирования капсулы вокруг кариосферного клубка хромосом описали Фил и Моенс (FiiI, Moens, 1973), исследуя комаров *Aedes aegypti* и *Culex pipiens*. Они установили, что во время стадии диплотены, после деградации синаптонемных комплексов, вокруг хромосом постепенно появляются *новообразованные* структуры, состоящие из материала, морфологически аналогичного элементам синаптонемных комплексов и ядерных оболочек. Это колечки (вернее, дырчатые структуры «annuli»), по размеру и виду похожие на окаймлённые поры ядерной оболочки. Эти элементы располагались свободно среди поликомплексов либо были связаны с ними или друг с другом в длинные ряды при помощи фибриллярного материала, образуя псевдомембраны. Были обнаружены также пористые пластины, связанные как с поликомплексами,

так и с ядерной оболочкой. Эти авторы пришли к заключению, что связующий все эти структуры фибриллярный материал является материалом модифицированных центральных элементов синаптонемных комплексов. В результате вокруг хромосом возникает мощная сеть структур, которая удерживает хромосомы вместе в ограниченном участке клеточного ядра. При этом ядро на цитологическом препарате имеет размеры 400 x 140 x 3 мкм. На основе подобных и собственных исследований ооцитов насекомых Грузова (1975, 1976) сделала важный вывод: белки центральных и латеральных элементов синаптонемного комплекса могут повторно возникать (синтезируясь *de novo*), появляться в ядре ооцита независимо один от другого и использоваться ядром ооцита для создания капсулы, которая изолирует хромосомы ооцита от кариоплазмы в ходе большого роста ооцита.

В более поздних исследованиях, когда на смену популярным в 1970–80-е гг. методам электронной микроскопии пришли более простые методы иммуоцитохимии, у введенного в лабораторную культуру жука *Tribolium castaneum* обнаружили, что кариосфера начинает формироваться во время диплотены как группа тесно расположенных бивалентов, но сами хромосомы при этом еще мало конденсированы. Однако эта группа хромосом начинает обособляться от остальной кариоплазмы экстенсивно развивающейся капсулой (рис. 6.8).

Капсула формируется из морфологически разнородного материала. Значительную часть этого материала составляют белки ядерного матрикса, среди которых идентифицированы белки, несущие структурные функции — ламин В и F-актин. Кроме этого, в составе капсулы найдены рибонуклеопротеиды, содержащие малую ядерную РНК, включая зрелую малую ядерную РНК (snRNA), имеющую на 5'-конце триметилгуа-



**Рис. 6.8.** Ооциты насекомых

Слева — изолированный нефиксированный ооцит *Tribolium castaneum*; стрелки — кариосфера с капсулой. ДНК окрашена DAPI. Масштабный отрезок 20 мкм. Справа — ранняя кариосфера (кариосома) в ядре ооцита *Tenebrio molitor*. Электронная микроскопия, ультратонкий срез. Масштабный отрезок 2 мкм. Предоставлено Д.С. Боголюбовым, не опубликовано.

нозиновый «кэп». Это позволяет развивать идею об участии капсулы кариосферы как особого ядерного домена в хранении генных продуктов, таких как snRNA, для периода раннего эмбриогенеза (Bogolyubov et al., 2013). Капсула *T. castaneum*, в частности, не содержит фактора сплайсинга SC35 (Баталова, Боголюбов, 2013)

Аналогичная картина строения и, вероятно, функционирования капсулы кариосферы как изолирующей транскрипционно неактивные или мало активные диплотенные хромосомы обнаружена и в ооцитах зимующих травяных лягушек *Rana temporaria*. Примечательно, что есть повод предполагать участие теломерных районов хромосом в формировании капсулы кариосферы, ибо в её составе у *R. temporaria* обнаружен связанный с теломерами белок TRF2, который также ассоциирует с ядерной мембраной (Podgornaya et al., 2000). В волокнистой капсуле кариосферы *R. temporaria* иммуноцитохимическими методами обнаружены актин, три типа ламинов — А, В и С, а также Sm-белки малых ядерных РНП (Ильичёва и др., 2016).

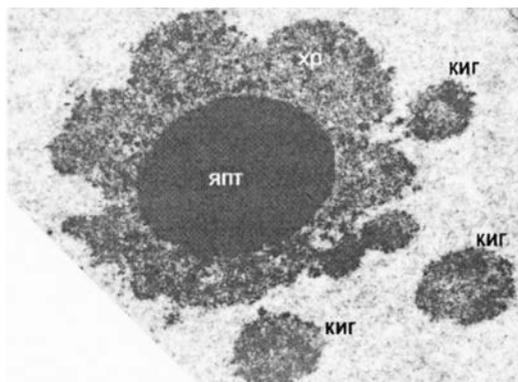
Таким образом, группировка диплотенных хромосом ооцитов внутри клеточного ядра в виде кариосферы — это способ выключения хромосом из клеточного метаболизма, сайленсинг хромосомного набора на то время, когда ооцит растёт и питается за счёт трофоцитов. Этот сайленсинг не всегда тотальный: у *Tribolium* (Bogolyubov et al., 2013) хромосомы в составе кариосферы (с капсулой) довольно интенсивно включают бром-УТФ вплоть до самых поздних этапов роста ооцита. Однако при этом внутриядерная капсула, окружающая кариосферу, становится компартментом ядра, физической структурой, служащей для запасаания определенных типов РНК и белков для нужд раннего развития зиготы.

**Кариосома млекопитающих.** Долгоживущие фолликулы млекопитающих, внешне одинаковые по размеру, содержат ооциты на разных стадиях развития, ибо диплотена (диктиотена) длится месяцами и годами. При этом эти ооциты (находящиеся в разных локусах яичника) развиваются асинхронно (Курило, 2012). Поэтому даже у одного организма бывает трудно найти последовательные стадии развития ооцита. Однако есть сообщения, что у некоторых видов млекопитающих вообще не бывает кариосферы/кариосомы, например, у козы (Sui et al., 2005) и кошки (Comizzoli, et al., 2011). Боголюбов (Bogolyubov, 2018) обращает внимание на то, что у козы хромосомы на стадии диплотены располагаются в ядре не в виде одной, а в виде нескольких групп, а у кошки ядра вообще сохраняют диктиотенное состояние: сеть хроматина заполняет всё ядро. Учитывая предостережения, изложенные в первых строчках этого раздела, подобные сообщения необходимо проверять, учитывая возраст животного, топографию ооцитов в пределах яичника и другие факторы.

У большинства видов млекопитающих кариосома всё же определённо существует. Чаще всего это весьма интегрированная структура вокруг ядрышкоподобного тела (nucleolus-like body), или постядрышка. При этом в ядре ооцита формируется подобие гетерохроматинового обруча из соединенных гетерохроматических районов хромосом, а плечи многих хромосом остаются свободными. Экстрахромосомное образование, которое оказывается центром кариосомы, в публикациях разных авторов, на разных объектах носит разные названия: ядрышкоподобного тела, «окруженного» ядрышка, частично окруженного ядрышка, в отличие от тех случаев, когда в ооците нет кариосомы, но есть только «неокруженное», истинное ядрышко. Вся эта терминология весьма неудачна и, как спра-

ведливо считает Боголюбов (2018), ждёт совершенствования. Наиболее изученной у млекопитающих является кариосома мыши (Bouniol-Baly et al., 1999) и человека (Miyara et al., 2003; Parfenov et al., 1998, 2000), критический анализ этих исследований выполнен Боголюбовым (Bogolubov, 2018). Структура кариосомы человека в какой-то начальной степени изучалась в экспериментах с ооцитами *in vitro* (Otsuki, Nagai, 2007).

В ооцитах человека центром кариосомы действительно служит ядрышкоподобное тело (Nucleolus-like body, NLB). Оно формируется постепенно на основе перестающего функционировать ядрышка. NLB имеет гладкий округлый контур, наружный слой его состоит из нерегулярно упакованных фибрилл, имеющих толщину 6–10 нм (рис. 6.9). К этому тельцу, назовем его центральным, крепятся фибриллы хроматина диктиотенного ядра, которые постепенно конденсируются. В некоторых публикациях условно выделяются 4 стадии такой конденсации (Bogolyubov, 2018). В состав центрального тела входят белки ламин А и ламин В и белок TRF2, но нет ни актина, ни топоизомеразы II (Pochukalina et al., 2016).



**Рис. 6.9.** Кариосфера человека в ооците из антрального фолликула.

Электронная микроскопия ультратонкого среза. Масштабный отрезок 2 мкм. киг — кластеры интерхроматиновых гранул, хр — хроматин, япт — ядрышкоподобное тело (центральное тело кариосферы).

Микрофотография предоставлена Г.Н. Почукалиной, по: Боголюбов, 2018; публикуется с разрешения редакции журнала «Цитология».

## I и II деления мейоза в ходе оогенеза

У многих беспозвоночных и позвоночных животных, включая млекопитающих, ооциты надолго задерживаются на стадии метафазы I. У млекопитающих и человека в состоянии задержанной метафазы I мейоза они находятся в составе фолликулов, в которых ооцит окружен фолликулярными клетками. Под влиянием эстрогенных гормонов происходит так называемая овуляция: разрыв стенки яичника и освобождение фолликулов в полость нижележащих половых путей: яйцеводов, фаллопиевых труб. Ооцит 1-го порядка на стадии метафазы I, еще окруженный остатками фолликулярных клеток, готов к оплодотворению.

Итак, у всех организмов ооциты 1-го порядка подвергаются «аресту» в профазе I мейоза, и это необходимо для подготовки к превращению ооцитов 2-го порядка в зиготу. Длительность периода задержки мейоза в ооците 1-го порядка видоспецифична. Она определяется временем, необходимым для созревания ооцита в

тех или иных физиологических условиях или условиях внешней окружающей среды, таких как гормональные стимулы, связанные с наступлением сезона размножения, течка или менструальные циклы, температура среды обитания у холоднокровных животных.

У организмов с внешним оплодотворением стимулом, завершающим созревание ооцита, служит оплодотворение. Например, у двустворчатых моллюсков и эхиурид этот стимул достаточен для преодоления обоих делений: от метафазы I до телофазы II. У большинства позвоночных животных выход из ареста в профазе I завершается тем, что ооцит выходит из яичника (из яйцевого фолликула), поступает в нижележащие отделы половой системы и снова останавливается в развитии на стадии метафазы I (второй период ареста). Стимулом вступления в анафазу I и дальнейшего развития (прохождения мейоза II) служит проникновение в ооцит сперматозоида, как, например, у асцидий. У других организмов развитие первого деления мейоза (анафаза I) продолжается без оплодотворения, но второй «арест» происходит в метафазе II (морские звёзды, нематода *C. elegans*, *Drosophila*).

Независимо от типа регулирования двух делений мейоза и особенностей пауз между ними, сегрегация гомологичных хромосом (в анафазе I), а потом хроматид (в анафазе II) проходит чётко, если нет геномных перестроек, а цитоплазма в обоих делениях разделяется асимметрично. Во время метафазы I веретено клеточного деления смещается из центра ооцита на периферию, и борозда клеточного деления между телофазными группами хромосом у животных отделяет меньшую часть цитоплазмы вместе с одним гаплоидным набором хромосом. Та дочерняя клетка, которая при цитотомии после телофазы I получает меньший объем цитоплазмы, превращается в первое полярное тельце (оно же — первое направительное тельце). Его судьба бывает разной у разных организмов (Schmerler, Wessel, 2011), но биологический смысл отделения одного гаплоидного набора хромосом со скудной цитоплазмой от сестринского гаплоидного набора хромосом с большим объёмом цитоплазмы состоит в том, что ооциту с большим объёмом цитоплазмы создаются благоприятные условия для его превращения в богатую цитоплазмой зиготу после того, как произойдет оплодотворение.

Исследователи, анализирующие процесс двух мейотических делений ооцита с двукратным образованием полярных телец, обращают внимание на то, что веретено деления в метафазе I и II и весь хромосомный аппарат, связанный с этими веретёнами, должны обладать высокой устойчивостью, чтобы «пережить» длительные «аресты» в развитии ооцитов.

Вопрос о том, каким образом ооцит I завершает цитокинез так, что хромосомы сегрегируют поровну, а цитоплазма делится неравным образом, подвергался специальным исследованиям. Оказалось, что у млекопитающих веретено деления в MI смещается из центра ооцита к его периферии в область цитоплазматического кортекса. В этом движении участвует актиновый цитоскелет, который активируется киназой Mos (Brunet, Maro, 2005). Микротрубочки не принимают в этом участия. У нуль-мутантов *mos-null* веретено MI-AI не может сместиться на периферию ооцита, и первое полярное тельце формируется вокруг одного из полюсов этого веретена. В результате первое полярное тельце оказывается лишь немногим меньше, чем ооцит II, формирующийся у второго полюса веретена этого деления (Verlhac et al., 2000).

В смещении веретена деления МI на периферию ооцита I и формировании асимметричного деления этого ооцита участвуют несколько белков: формин-2, малые ГТФ-азы RAC, CDC42 и RAN (Leader et al., 2002; Dumont et al., 2007; Halet, Carroll, 2007). Степень изученности процессов, происходящих в цитоплазме при образовании полярных телец в мейозе I и мейозе II, далека от полноты. Механика двух делений мейоза с образованием полярных телец описана в обзоре Эванса и Робинсона (Evans, Robinson 2011). Из этого обзора мы приводим лишь несколько цифр, полезных для представления об относительных размерах ооцита и полярных телец. Первое полярное тельце у мыши составляет лишь 2–4% от объема ооцита, в то время как радиусы клеток различаются так: радиус ооцита составляет 34–38 мкм, а радиус первого полярного тельца 10 мкм (Barrett, Albertini, 2007). Существуют специальные исследования динамики развития вторых полярных телец, возникающих в результате мейоза II (Larson et al., 2010).

## Глава 7.

# Мейоз и его генетический контроль у покрытосеменных растений

С.А. Симаковский, Ю.Ф. Богданов

У подавляющего большинства видов цветковых растений мейоз проходит по каноническому типу. Об уникальных исключениях написано в гл. 13. Гены, контролирующие ход мейоза у растений и не влияющие на ход митоза, наиболее изучены у кукурузы *Zea mays* и крестоцветного растения *Arabidopsis thaliana*. К их числу относятся гены, определяющие дифференциацию соматических клеток в спорогенные и инициирующие мейоз, гены, кодирующие мейоз-специфичные белки хромосом и синаптонемных комплексов, гены белков-медиаторов и ферментов мейотической рекомбинации ДНК, гены, контролирующие специфичное для мейоза поведение центромер и прохождение двух делений мейоза. Большое число таких генов клонировано и изучено на молекулярном уровне. Интенсивно развиваются исследования мейотических генов риса *Oryza sativa*, в меньшей степени — генов ячменя *Hordeum vulgare*, ржи *Secale cereale*, томата *Solanum lycopersicum*, гексаплоидной пшеницы *Triticum aestivum* и других растений. Для выявления мейотических генов используется химический и инсерционный мутагенез, генетический и цитологический анализы, методы обратной генетики и биоинформатики, геномные и протеомные исследования.

## Место мейоза в жизненном цикле растений

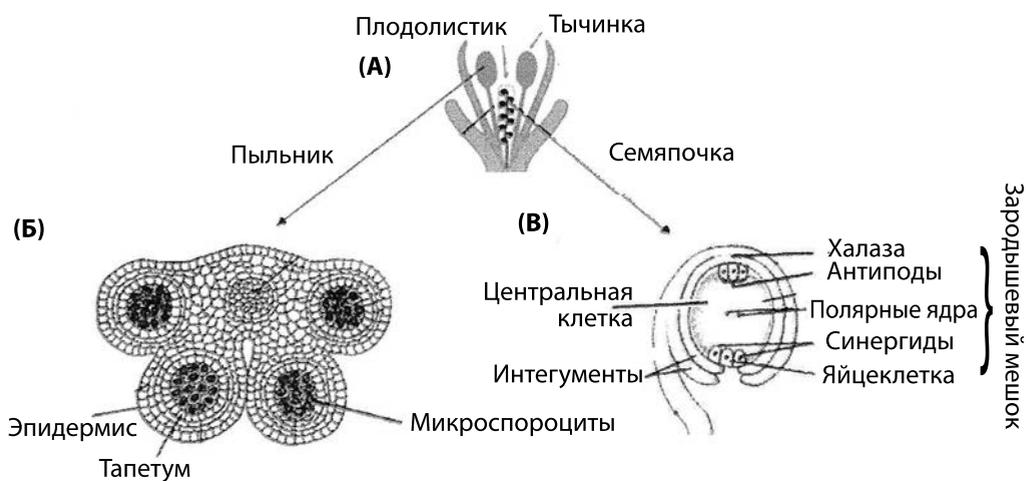
Как известно, жизненный цикл растений состоит из двух фаз: диплоидного спорофита и гаплоидного гаметофита. Переход между этими фазами осуществляется с помощью мейоза, который происходит в конце жизненного цикла спорофита ( $2n$ ) и служит для образования микро- и мегаспор, из которых затем развиваются мужские и женские гаметофиты ( $n$ ): пыльцевые зёрна и зародышевые мешки. Микроспорогенез происходит в пыльниках, мегаспорогенез — в семязпочках. При этом формируются мейоциты: материнские клетки пыльцы и материнские клетки мегаспор. Те и другие уже непосредственно делятся путём мейоза. В отличие от животных, у растений отсутствует заранее детерминированная зародышевая линия клеток. Мейоциты растений дифференцируются из соматических клеток в результате серии гомеозисных активационных шагов (Ma, 2005; Feng, Dickinson, 2007). Далее мы опишем мужской и женский мейоз у растений и судьбу образующихся в ходе него клеток.

У различных групп растений существует большое разнообразие морфологических и цитологических особенностей спорогенеза, мы же дадим краткое принципиальное описание этих процессов, в основном, на примере однодольных растений — злаков.

## Мужской мейоз в ходе микроспорогенеза

Мейоз происходит в пыльниках на ранней стадии развития этих органов: когда молодые пыльники находятся внутри незрелых бутонов (у двудольных растений), или скрыты в молодых колосьях внутри растущих стеблей (у злаков), или в прорастающих луковицах (у некоторых луковичных). Мейоз в пыльниках заканчивается задолго до того, как цветки созревают и раскрываются (рис. 7.1).

На ранних этапах развития пыльника его меристематические клетки не отличаются по форме и величине. Позднее закладывается спорогенная ткань: появляются крупные археспориальные клетки, которые делятся путём митоза и дают начало микроспороцитам — материнским клеткам пыльцы (МКП) — и клеткам тапетума. Тапетумом у высших растений называют внутренний, выстилающий слой клеток в спорангиях и пыльниках. Клетки тапетума, одно-, дву- и многоядерные, содержат вещества, необходимые для развивающихся спороцитов. Клетки тапетума непосредственно примыкают к микроспороцитам и играют важную роль в их питании. Микроспороциты внутри пыльника располагаются комплексом и имеют крупные диплоидные ядра (диаметр которых существенно больше, чем у ядер окружающих их соматических клеток). У злаков на стадиях лептотены и ранней зиготены мейоза микроспороциты имеют многоугольную форму и тесно связаны в единую ткань. Во время пахитены они округляются и постепенно приобретают оболочку из полисахарида каллозы. Начиная со стадии диплотены и да-



**Рис. 7.1.** Репродуктивные органы у покрытосеменных растений на примере *Arabidopsis thaliana*.

Схема цветка (А); поперечный срез пыльника (Б); поперечный срез завязи (В). По: Wilson. Yang, 2004, с изменениями.

лее в ходе мейоза, микроспороциты округлы, покрыты каллозной оболочкой и не связаны между собой.

В лептотене хромосомы имеют вид тонких, слабо конденсированных нитей (рис. 7.2). В зиготене обнаруживается кластеризация теломер на ядерной оболочке (слабо враженная фигура «букета»). Начиная с теломер и далее, во множественных сайтах инициируется спаривание (синапсис, конъюгация) хромосом. Хромосомы укорачиваются. В пахитене гомологичные хромосомы спарены по всей длине (полный синапсис), ещё более укорочены и утолщены. В диплотене происходит десинапсис гомологов, на этой стадии обнаруживаются хиазмы. В диакинезе компактизованные биваленты рассредоточены по всему ядру. На всех стадиях профазы I хорошо видны ядрышко и ядерная оболочка, которая разрушается в конце стадии диакинеза.

В метафазе I биваленты собираются на экваторе веретена деления, к кинетохорам прикрепляются нити веретена. Ядрышко не выявляется; его вещество диспергируется по всему содержимому клетки (ядерной оболочке в это время уже нет). Биваленты компактизованы и интенсивно окрашиваются. В анафазе I биваленты разъединяются на две гомологичные хромосомы (прекращается их контакт в местах хиазм), и гомологичные хромосомы направляются к противоположным полюсам. В телофазе I хромосомы остаются конденсированными. В конце этой фазы у злаков происходит цитокинез. Из одной клетки образуются две, значительно отличающиеся по форме от исходной. Обе дочерние клетки (они тесно соединены и именуется диадой) вступают в интеркинез. В течение мейоза I изменяется форма клеток, вступивших в мейоз.

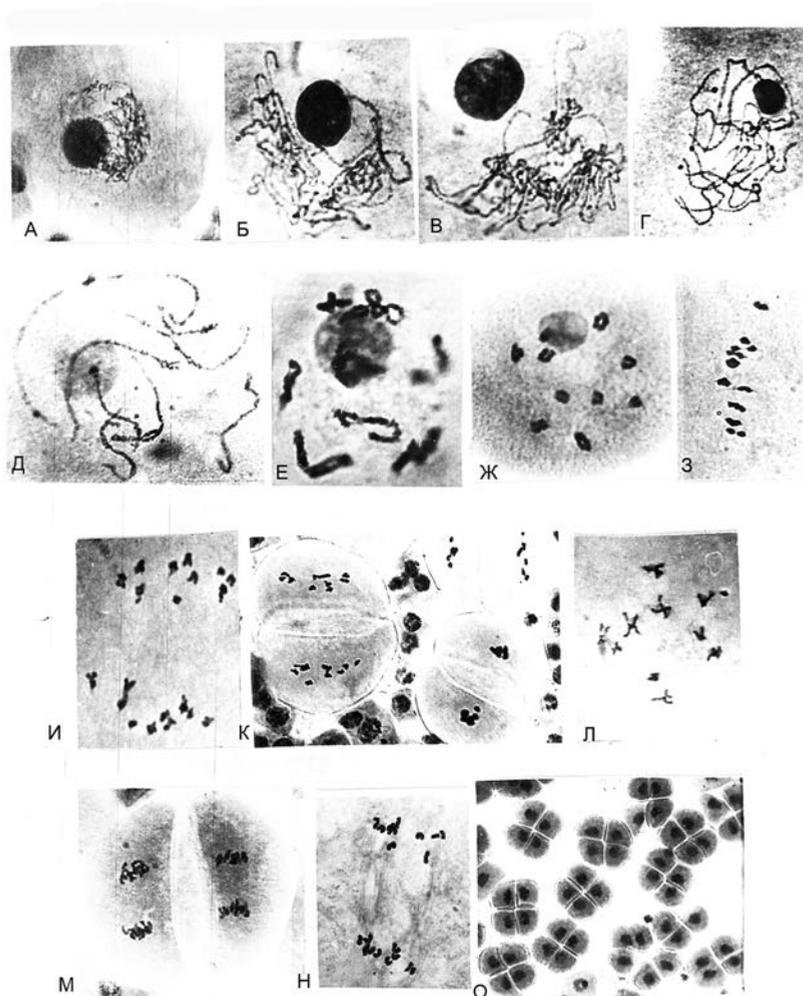
В метафазе II одновременно в двух клетках диады хромосомы выстраиваются в экваториальных плоскостях. В метафазе II хромосомы длиннее, чем в метафазе I, состоят из сестринских хроматид, объединённых в области центромер. В анафазе II, после прекращения когезии между центромерами сестринских хроматид, хроматиды расходятся с помощью микротрубочек веретена деления.

В телофазе II хромосомы декомпактизуются, формируются ядерная оболочка и ядрышко. После цитокинеза возникает тетрада гаплоидных микроспор, которые заполняют полость пыльника. На этом мейоз и микроспорогенез завершается. После высвобождения микроспор из тетрад в каждой из них начинается микрогаметогенез – образование пыльцевых зёрен.

В ходе двух делений путём митоза (второе происходит только в одной из клеток) и последующей дифференцировки образуется мужской гаметофит — пыльцевое зерно, состоящее из трёх гаплоидных клеток, вегетативной и двух спермиев — мужских гамет.

## Женский мейоз в ходе мегаспорогенеза

Образование женских спор (мегаспор) у цветковых растений происходит в пестике. В завязи пестика у злаков образуется одна семязпочка. В ходе её развития закладывается одна археспориальная клетка, которая отличается от соматических клеток большей величиной, крупными ядром и ядрышком и оптически более плотной цитоплазмой. Археспориальная клетка становится мегаспороцитом и вступа-



**Рис. 7.2.** Нормальный мейоз в пыльниках кукурузы *Zea mays*.

Окраска ацетокармином. **А** — лептотена, **Б–В** — зиготена, **Г** — пахитена — синапсис 10 пар гомологичных хромосом завершён, **Д–Е** — ранняя и поздняя диплотена, **Ж** — диакинез, **З** — метафаза I — 10 бивалентов ориентированы своими центромерами к противоположным полюсам клетки, **И** — анафаза I — редукционное расхождение гомологичных хромосом (10+10) в двум полюсам. **К–Л** — метафаза II, **Л** — видны 10 хромосом, каждая из которых состоит из двух сестринских хроматид, соединённых в области центромеры (представлена одна половина клетки на стадии метафазы II), **М** — телофаза II, видны разошедшиеся сестринские хроматиды — результат сегрегации центромер, **Н** — представлена одна половина клетки на стадии анафазы II, **О** — тетрады микроспор: четыре гаплоидные клетки — результат двух мейотических делений одного микроспороцита. Микрофотографии любезно предоставлены И.Н. Голубовской.

ет в мейоз. Цитологическая картина мейоза в мегаспороците принципиально не отличается от картины мейоза в микроспороцитах. По времени мейоз в мегаспороците не совпадает с мейозом в пыльниках и обычно протекает позднее. После первого деления мейоза образуется диада гаплоидных клеток. Второе деление мейоза приводит к образованию тетрады мегаспор (итог мейоза и мегаспорогенеза), которые, в отличие от тетрад микроспор, располагаются линейно. Из четырех гаплоидных мегаспор продолжает развитие только одна (в отличие от микроспор), которая становится материнской клеткой зародышевого мешка. Остальные три клетки с гаплоидными ядрами дегенерируют.

Далее в ходе мегагаметогенеза материнская клетка зародышевого мешка три раза делится митотически. В результате трёх последовательных раундов митотических делений в пределах одного зародышевого мешка образуются 8 гаплоидных ядер, два из которых сливаются и формируют центральную диплоидную клетку зародышевого мешка, на одном полюсе которого располагаются яйцеклетка (женская гамета, гаплоидный ( $n$ ) набор хромосом) и две гаплоидные синергиды ( $1n + 1n$ ), на другом — три антиподы (каждая с гаплоидным набором хромосом). После завершения этих процессов в зародышевом мешке оказывается 7 клеток — одна диплоидная и 6 гаплоидных.

В ходе двойного оплодотворения один из спермиев пыльцевого зерна сливается с яйцеклеткой (образуется  $2n$  зигота), второй — с центральным ядром (образуется триплоидный эндосперм). Семязачка с развивающимся зародышем и эндоспермом превращается в семя. Двойное оплодотворение у цветковых растений, как известно, открыто в 1898 г. С.Г. Навашиным.

## Краткая история исследования генов мейоза у растений

Гены, которые управляют ходом мейоза и не влияют на митоз, «молчат» в вегетативном клеточном цикле у растений, были впервые обнаружены при разработке генетики кукурузы на рубеже 30-х годов XX века Бидлом (Beadle, 1929, 1930). Бидл обнаружил у кукурузы рецессивные мутации *polymitotic*, которая приводит к преждевременным митотическим делениям после мейоза II, и *asynaptic*, которая препятствует синапсису хромосом. Мутации вызывали ядерную (хромосомную) стерильность растений.

В дальнейшем гены мейоза были открыты у нескольких видов однодольных и двудольных растений (Rhoades, 1956; Golubovskaya, 1979, 1989; Kaul, Murthy, 1985; Namant et al., 2006; Mercier, Grelon, 2008). До конца XX века кукуруза оставалась объектом с наиболее изученным набором специфических генов мейоза. Из примерно 40 таких генов большая часть была открыта И.Н. Голубовской (Golubovskaya, 1979, 1989; Cande et al., 2009; Cande, Freeling, 2011; Богданов, 2014). Эти исследования были начаты в 1975 г. в Институте цитологии и генетики АН СССР в Новосибирске и в Краснодарском НИИ сельского хозяйства и продолжены во Всесоюзном НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова в Ленинграде, а с 1992 г. поочередно — в Санкт-Петербурге и в Университете Северной Дакоты в США (Golubovskaya et al., 1992, 1993, 1997; Sheridan et al., 1996, 1999). После 1999 г. эти исследования про-

должились в Калифорнийском университете Беркли в США (Golubovskaya et al., 2002, 2006). Наиболее важные из этих генов были изучены на молекулярном уровне (Hamant et al., 2005; Pawlowski et al., 2003, 2004, 2009; Wang et al., 2012). Хронология этих исследований и оценки их значимости приведены в обзорах (Богданов, 2014; Симановский, Богданов, 2018).

В конце 1990-х годов сначала в Великобритании, затем в других странах началось интенсивное изучение генов мейоза у *Arabidopsis thaliana*, удобного модельного объекта для генетики растений (Glover et al., 1998; Caryl et al., 2000; Motamayor et al., 2000; Osakabe et al., 2002; Mercier et al., 2001, 2003; Higgins et al., 2005; Mercier, Grelon, 2008; Zamariola et al., 2014). В этих исследованиях для получения новых мутаций применяются методы как прямой генетики (инсерционный мутагенез), так и биоинформатики (геномный поиск по последовательностям уже известных генов других организмов, в основном почкующихся дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*) (Mercier, Grelon, 2008).

Актуальность приобрела генетика мейоза у риса в исследованиях, в основном, японских и китайских учёных (Nonomura et al., 2003, 2004, 2007; Wang et al., 2011; Luo et al., 2014).

Параллельно с этими исследованиями развивался многолетний проект изучения генов мейоза у ржи на основе генетической коллекции инбредных линий автофертильной ржи, созданной С.П. Соснихиной и В.Г. Смирновым в Санкт-Петербургском государственном университете, в Петергофе. В отличие от большинства упомянутых исследований, гены мейоза у ржи были открыты не традиционным путём экспериментального мутагенеза, а выявлены как спонтанные мутации, возникшие в природных популяциях, и закреплены с помощью инбридинга в ходе многолетнего самоопыления растений в искусственно созданных автофертильных линиях ржи и генетического анализа потомства самоопылённых растений в каждом поколении (Sosnikhina et al., 1992, 2005; Соснихина и др., 1994, 2005, 2007, 2009; Ловцюс и др., 2009; Михайлова и др., 2010). В 1990-е и 2000-е годы изучение этих мутантов у ржи носило характер международного сотрудничества (Bogdanov et al., 1998; Mikhailova et al., 2001, 2006; Jenkins et al., 2005; Phillips et al., 2008; Малышев и др., 2009; Голубцов и др., 2010; Долматович и др., 2013а, б; Симановский и др., 2014). В те же годы велись исследования мейотических генов томата (Havekes et al., 1994, 1997; Qiao et al., 2012) и ячменя (Lundqvist et al., 1997; Barakate et al., 2014; Colas et al., 2016).

Изучение генного контроля мейоза у аллополиплоидной пшеницы (Feldman, 1966; Martinez-Perez et al., 2001) и других аллополиплоидов (Jenkins, Jimenez, 1995; Moore, 2002) принесло важные результаты для понимания явления «диплоидизации» аллополиплоидов. Это явление состоит в том, что многие виды растений, исторически сформировавшиеся путём полиплоидизации, имеют мейоз диплоидного типа, когда, несмотря на присутствие гомеологичных хромосом, спаривание и синاپсис хромосом в профазе I мейоза происходит строго между гомологами.

В данной главе мы сосредоточили внимание, в основном, на генах мейоза у двух видов растений, служащих модельными для изучения мейоза, — *Arabidopsis thaliana* (далее — арабидопсис) и *Zea mays* (кукуруза) — растений с наиболее изученными генами мейоза. При этом мы проводим сравнения с мейотическими генами других растений, важных для сельского хозяйства.

## Генетический контроль дифференциации и формирования мейоцитов

У кукурузы известна мутация *multiple archesporial cells 1 (mac1)*, которая нарушает баланс между археспориями (предшественниками мейоцитов) и окружающими их соматическими клетками, а именно, снимает ограничение на количество клеток, способных вступать в мейоз (Sheridan et al., 1996, 1999; Wang et al., 2012). Как в пыльниках, так и в семязпочках мутантов *mac1* наблюдается избыточное число мейоцитов и недостаток соматических клеток. Такой цитологический фенотип является результатом нарушения баланса при переходе от вегетативного пути развития клеток к спорогенному на ранних этапах формирования пыльников и семязпочек. В результате нетипичного развития формируются дефективные мейоциты (100–160 микроспороцитов вместо 60 и более одного макроспороцита вместо одного), которые, тем не менее, вступают в мейоз. Таким образом, мутация *mac1* затрагивает процесс образования и дифференциации археспориальных клеток и мейоцитов, но не влияет на активацию мейоза.

При микроспорогенезе в пыльниках мутантов *mac1* наблюдается остановка мейоза на различных стадиях. Предполагают, что это связано с отсутствием нормального слоя соматических клеток в пыльниках (клетки тапетума), которые должны обеспечивать питание мейоцитов. В итоге мутация *mac1* приводит к полной мужской стерильности растений (Sheridan et al., 1999).

При макроспорогенезе у мутантов *mac1* в каждой семязпочке вместо одной археспориальной клетки, вступающей в мейоз (как у нормальных растений), образуется от одной до 5–6 археспориальных клеток. Все они превращаются в материнские клетки макроспора и претерпевают мейоз. В результате образуются семязпочки с несколькими макроспорами, которые вступают в постмейотические митозы, и продолжается аномальное развитие семязпочек. Как известно, у нормальных растений макроспора делится путем трех последовательных митозов. Они проходят без цитокинеза, образуется синцитий, и только позднее происходит цитокинез и образуется семиклеточный зародышевый мешок с восемью ядрами (два ядра в одной из клеток), одно из которых становится яйцеклеткой. А у мутантов *mac1* в семязпочке, содержащей несколько макроспор, образуется более многоядерный синцитий, содержащий десятки ядер (И.Н. Голубовская, личное сообщение), и эти семязпочки, как правило, стерильны (Sheridan et al., 1996).

Анализ двойных мутантов показал, что ген *MAC1* активируется в мейозе раньше генов *AMI* и *AFD1*, регулирующих профазу I мейоза (Wang et al., 2012). Ген *MAC1* был клонирован, и было установлено, что белок MAC1 кукурузы является ортологом белков TDL1A риса *Oriza sativa* и TAPETUM DETERMINANT1 (TPD1) *Arabidopsis thaliana* (Yang et al., 2005; Zhao et al., 2008; Wang et al., 2012). У риса эти белки взаимодействуют с белком MULTIPLE SPOROCTES1 (MSP1), а у арабидопсиса — с белком EXCESS MALE SPOROCTES1 (EMS1) / EXTRA SPOROGENOUS CELLS (EXS). В свою очередь, между собой эти белки также являются ортологами (Canales et al., 2002; Zhao et al., 2002; Nonomura et al., 2003). При отсутствии этих белков наблюдаются нарушения, схожие с цитологическим фенотипом мутантов *mac1* кукурузы (хотя наблюдаются некоторые отличия в мужском и женском мейозе). Считается, что MSP1 и

EMS1/EXS являются рецепторными протеинкиназами, содержащими лейцин-богатые повторы (leucine-rich repeat receptor protein kinase). Они локализируются на наружной поверхности клетки и служат важными компонентами сигнального каскада, вовлечённого в сбор информации от соседних клеток. Предполагают, что именно этот сигнальный каскад помогает определить судьбу будущих мейоцитов и баланс между клетками пыльников и семяпочек. TDL1A и TDL1B риса и TPD1 арабидопсиса — это небольшие белки, которые служат, по-видимому, лигандами, связывающимися с белками MSP1 и EMS1/EXS соответственно, и, таким образом, участвуют в том же сигнальном каскаде (Ma, 2005; Zhao et al., 2008). Поэтому мутанты арабидопсиса *tpd1* (отсутствие лиганда) и *ems1/exs* (отсутствие рецептора) имеют одинаковый цитологический фенотип: избыток микроспороцитов и нехватка клеток тапетума.

У арабидопсиса известны и другие возможные участники этого сигнального каскада: *ABORTED MICROSPORES (AMS)*, *MALE STERILE 1 (MS1)* и *MYB103*. У мутантов *ams* формирование пыльников и мейоз протекают нормально, но микроспоры и клетки тапетума подвергаются дегенерации сразу по окончании мейоза. Ген *AMS* кодирует транскрипционный фактор, относящийся к bHLH-классу. Экспрессия фактора начинается в предмейотической интерфазе и возрастает на постмейотических стадиях развития пыльника (Sorensen et al., 2003).

У мутантов *ms1* микроспоры разрушаются после их освобождения из тетрад. Белок MS1 содержит домен PHD-finger, который может участвовать в регуляции транскрипции (Wilson et al., 2001).

Ген *MYB103* экспрессируется только в клетках тапетума и необходим для образования слоя тапетума правильной морфологии и нормального микроспорогенеза (Higginson et al., 2003). Действие генов *AMS*, *MS1* и *MYB103* начинается после того, как экспрессия генов *EMS1/EXS* достигает своего пика.

Кроме генов-участников предполагаемого *EMS1/EXS*-зависимого сигнального каскада, у риса открыт ген *MEIOSIS ARRESTED AT LEPTOTENE1 (MEL1)*, который кодирует белок ARGONAUTE, специфичный для клеток зародышевой линии (Nonomura et al., 2007). У мутантов *mell* в мейоз вступают дефективные мейоциты, деление в которых блокируется на стадии лептотены: дальнейшей компактизации хромосом не происходит. Ген *MEL1* регулирует деление в археспориальных клетках и обеспечивает структурные модификации хромосом перед мейозом, предположительно, путём подавления экспрессии генов с помощью РНК-интерференции. Открытие этого гена дало основание предполагать, что, как и в мейозе у других высших эукариот, опосредованная РНК система сайленсинга участвует в дифференциации мейоцитов у растений (Holmes, Cohen, 2007). По мнению И.Н. Голубовской (личное сообщение), ген *MEL1* риса следует относить к категории генов, контролирующих вступление в мейоз.

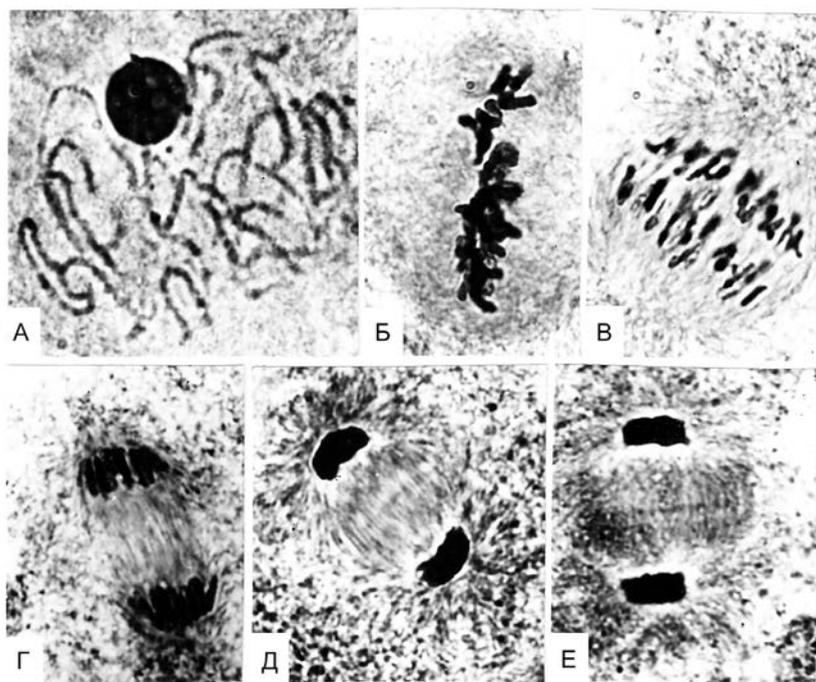
## Генный контроль вступления в мейоз

После дифференциации мейоцитов в них должно происходить переключение митотического клеточного цикла на мейотический. Механизмы активации мейоза хорошо изучены у животных и грибов, понимание этого процесса у растений на настоящий момент является неполным (Hamant et al., 2006; Mercier, Grelon, 2008).

Известен ген *AMEIOTIC 1* (*AM1*), который играет ключевую роль в активации мейоза у кукурузы (Golubovskaya et al., 1993, 1997; Pawlowski et al., 2009). Множественные мутантные аллели раннего гена *am1* действуют ступенчато. Мейоциты мутантов *am1-1* не вступают в мейоз. Как в мужских, так и в женских мейоцитах вместо мейотического деления происходит деление, подобное митотическому (рис. 7.3). После двух–трех таких синхронных делений клетки подвергаются дегенерации. В семяпочках аллель *am1-1*, кроме такого же действия, может «пропускать» клетки в премейотическую интерфазу, но блокирует её развитие.

Важными характеристиками мутантов *am1-1* являются организация хромосом и веретена деления по типу, характерному для митоза, и отсутствие в ядрах мейоцитов иммунофлуоресцентных сигналов белка рекомбинации RAD51.

Кроме аллеля *am1-1*, обнаружено ещё четыре мутантных аллеля гена *AM1*. Три из них (*am1-2*, *am1-485* и *am1-489*), подобно аллелю *am1-1*, приводят к делению



**Рис. 7.3.** Цитологическое проявление мутации *am1* (*ameiotic 1*) кукурузы.

Микроспороциты мутантов вместо вступления в мейоз вовлекаются в деление, подобное митотическому. **А** — профаза митотического типа в микроспороците: спаривание и синапсис хромосом отсутствуют. **Б** — метафаза: на экваторе веретена выстраиваются неспаренные хромосомы. **В, Г** — анафаза: к каждому полюсу отходит по 20 сестринских хроматид. **Д, Е** — телофаза, цитокинез и формирование диплоидных микроспор. Микрофотографии любезно предоставлены И.Н. Голубовской.

митотического типа либо к аресту развития клеток на стадии премейотической интерфазы (в женских мейоцитах) (Pawlowski et al., 2009).

Пятый аллель *aml-pral* (*ameiotic 1 - prophase I arrest*) «пропускает» спорогенные клетки в профазу I, но блокирует переход из лептотены в зиготену, а иногда далее в пахитену (Голубовская и др., 1992; Golubovskaya et al., 1993, 1997). При действии аллеля *aml-pral* в ранней профазе формируется типичная лептотенная структура хромосом, однако фигура букета не формируется, и на хромосомах не обнаруживаются иммунофлуоресцентные сигналы RAD51.

Исследование серии из пяти аллелей гена *AMI* выявило наличие в белке-продукте гена *AMI* двух функционально важных доменов. Первый, N-концевой, домен необходим для вступления клеток в профазу I и дефектен у аллелей *aml-1* и *aml-2*. Второй домен, который расположен в центре молекулы между двумя суперспиральными доменами, необходим для перехода клеток из лептотены в пахитену, и он дефектен у мутантов *aml-pral*. Ген *AMI* оказался новым геном для однодольных растений, но сходным по действию с геном *SWITCH1* двудольного растения *Arabidopsis thaliana*. Специфичный для растений белок, кодируемый геном *AMI*, обладает 30% идентичностью с белком *SWITCH1* арабидопсиса (Pawlowski et al., 2009). Известно четыре мутантных аллеля гена *SWITCH1* (*SWI1*): *swi1-1*, *swi1-2*, *dyad* и *male sterile 4 (ms4)* (Motamayor et al., 2000; Siddiqi et al., 2000; Mercier et al., 2001). Для гомозигот по этим аллелям характерны схожие нарушения в женских мейоцитах, которые также приводят к делению, подобному митозу. Это сходство даёт основание предполагать, что гены *AMI* кукурузы и *SWI1* арабидопсиса являются функциональными гомологами. Роль гена *SWI1* в инициации мейоза подтверждается хронологией его экспрессии: белок *SWI1* присутствует в премейотической S-фазе, но в профазе I мейоза уже не выявляется (Mercier et al., 2001, 2003). Однако мужские мейоциты мутантов *swi1* вступают в профазу I мейоза. Для гомозигот по аллелю *swi1-2* (наиболее сильный мутантный аллель) характерно отсутствие бивалентов, отсутствие сигналов RAD51 и преждевременная потеря когезии сестринских хроматид (Mercier et al., 2001, 2003). Эти нарушения приводят к тому, что в метафазе I наблюдается 20 хроматид ( $2n = 10$ ), сегрегация которых нарушена.

Циклин-подобные белки арабидопсиса (*CDC45* и *SDS*) также могут играть роль в контроле прохождения мейотического клеточного цикла либо иметь более специфичную роль в репарации ДНК (Azumi et al., 2002; Stevens et al., 2004). Кроме того, фенотипы мутантов *ms5/tdm* и *tam* арабидопсиса (которые, соответственно, приводят к третьему циклу сегрегации хромосом и удлинению мейоза I) дают основания предполагать, что гены *MS5/TDM* и *TAM* могут служить регуляторами мейотического клеточного цикла (Glover et al., 1998; Wang et al., 2004).

У арабидопсиса открыто пять *AML*-генов, продукты которых схожи с РНК-связывающим белком *Mei2* *Schizosaccharomyces pombe*, играющим определяющую роль в активации мейоза у дрожжей. Фенотипы, наблюдаемые при выключенных генах *AML1-5*, указывают на роль этих генов в мейозе, однако наблюдаемые нарушения исключают направляющую роль *AML*-генов в инициации мейоза у растений (Kaur et al., 2006). Гены арабидопсиса *AML1-5* оказывают сильное плейотропное действие на развитие растений.

Определение судьбы мейоцита и запуск мейотического деления должны происходить до или во время предмейотической S-фазы, т.к. на этой стадии уже проис-

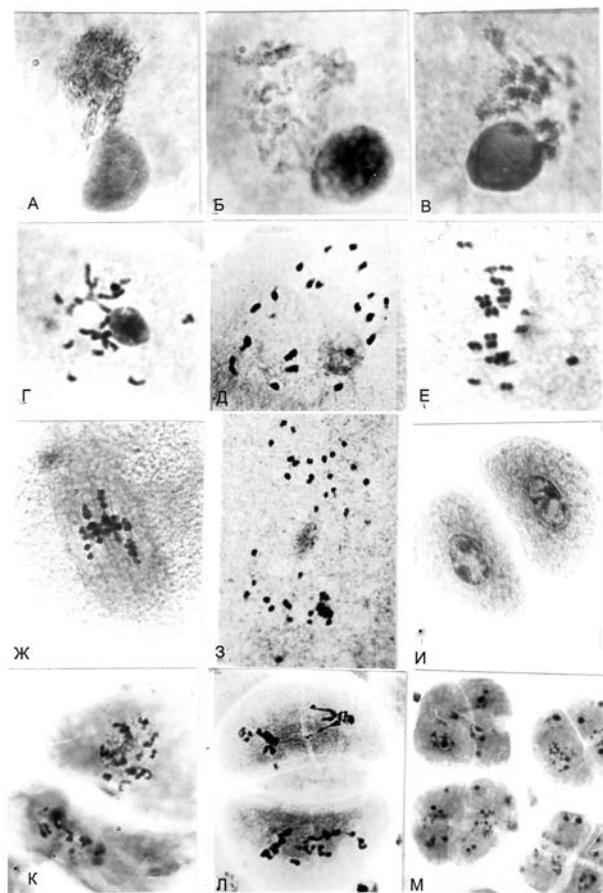
ходит «загрузка» мейоз-специфичных гистонов, когезинов и конденсинов (Strich, 2004). Ген *AMI* кукурузы эпистатирует над геном *AFD1*, мутации в котором повреждают гомолог белка-когезина *REC8* (Pawlowski et al., 2009). Аналогично этому, ген *SWI1* арабидопсиса эпистатирует над *SYN1/AtREC8* (Mercier et al., 2003). Эти факты являются хорошим доказательством того, что контроль над инициацией мейоза осуществляется ранее мейотической регуляции когезии сестринских хроматид.

## Генный контроль когезии сестринских хроматид

**Премейотическая интерфаза и лептотена.** Когезию сестринских хроматид у кукурузы контролирует ген *ABSENCE OF FIRST DIVISION 1 (AFD1)*. Мутация *afd1* начинает проявляться в лептотене. Она нарушает типичную для профазы I организацию хромосом. Во время метафазы I отсутствует когезия центромер сестринских хроматид, в результате чего в анафазе I происходит сегрегация не гомологичных хромосом, а сестринских хроматид, т.е. сразу происходит второе деление мейоза (рис. 7.4). После клонирования этого гена оказалось, что белок *AFD1* является  $\alpha$ -клейсином, гомологом *REC8* (Golubovskaya et al., 2006). Этот белок необходим для «рекрутирования» белков синаптонемных комплексов и формирования их латеральных элементов; кроме того, он сохраняется в центромерных районах хромосом в метафазе I и анафазе I (защищен от гидролиза другим белком — шугошином, *SGO*) и предохраняет сестринские хроматиды от разъединения при сегрегации гомологичных хромосом в ходе первого деления мейоза (Golubovskaya et al., 2006).

В состав когезинового комплекса в митотических хромосомах (в вегетативных клетках) эукариот входят белки *SMC1* и *SMC3* из группы *SMC* (Structural Maintenance of Chromosomes — белки поддержания структуры хромосом) и два белка *Sccl/RAD21* и *Sccl3/PSC3*, которые обеспечивают объединение сформированного белками *SMC* кольца, удерживающего сестринские хроматиды в соединённом состоянии (Haering et al., 2002; Ishiguro, Watanabe, 2007). В мейозе у растений *Sccl/RAD21* подвергается замене на *REC8*. Как выяснилось, именно этот белок у кукурузы кодируется геном *AFD1*.

Была получена серия аллельных мутаций гена *AFD1* кукурузы. Изучение мутантов показало, что формирование белковых осей хромосом (осевых элементов, **ОЭ**) в лептотене зависит от уровня экспрессии *REC8*. У гомозигот по сильным аллелям (*afd1-1*, *afd1-2* и *afd1-3*) хромосомные оси в профазе I не формируются (Hamant et al., 2006; Golubovskaya et al., 2006). Однако для гомозигот по слабому мутантному аллелю *afd1-4* характерно как наличие лептотенных осей хромосом, так и образование фигуры букета. Изучение мутантов по различным аллелям показало, что *AFD1* контролирует не саму инициацию формирования **ОЭ**, а процессы их удлинения (elongation), созревания (maturation) и превращения в латеральные элементы синаптонемных комплексов во время синапсиса гомологичных хромосом. Интересно, что частичной элонгации **ОЭ** достаточно для формирования лептотенной структуры хромосом и формирования «букета» хромосом. Однако гомологичное спаривание, синапсис и рекомбинация требуют полной элонгации осей. Предполагают, что ген *AFD1* является геном-регулятором событий профазы I у кукурузы (Cande et al., 2009).



**Рис. 7.4.** Характер клеточного деления при микроспорогенезе у мутантов *afd1* (*absence of the first division 1*) кукурузы

**А–В** — последовательные стадии профазы I мейоза. У мутантов отсутствуют нормальные стадии зиготены, пахитены и диплотены, видны неразличимые неуплотненные структуры хроматина. **Г** — условно соответствует стадии диплотены, т.к. отдельные хромосомы высвобождаются из общей массы. Бивалентов нет, что является результатом отсутствия синапсиса гомологов у мутантов. **Д** — диакинез с 20 унивалентами, разбросанными по клетке. **Е–Ж** — нетипичная для мейоза метафаза I. Нет бивалентов, и, более того, все 20 унивалентов на метафазной пластинке с ориентированными к противоположным полюсам сестринскими центромерами. В нормальном мейозе сегрегация центромер происходит во втором делении. **З** — анафаза I, имеет место эквационное расхождение центромер (20+20). Редукции хромосом нет. **И** — диада выглядит нормальной. **К–М** — второе деление мейоза. В Метафаза II – Телофаза II происходит беспорядочное распределение хромосом, тетрады в результате многоядерные и с микроядрами. Микрофотографии любезно предоставлены И.Н. Голубовской.

У арабидопсиса также известен гомолог REC8 — белок SYN1. Интересно, что белки SYN1 арабидопсиса и AFD1 кукурузы в большей степени схожи с белками RAD21 млекопитающих и дрожжей, чем с их мейотическими аналогами REC8. Мутации в гене *SYN1/AtREC8* приводят к сложным мейотическим фенотипам, которые вызывают полную мужскую и женскую стерильность. Первичные дефекты выявляются в ранней лептотене — имеет место неравномерная конденсация хромосом. В анафазе I наблюдается сильная фрагментация хромосом (Bai et al., 1999). Сообщается о возможном участии белка SYN1 в спаривании хромосом (Cai et al., 2003). Экспрессия растительных аналогов REC8 не является мейоз-специфичной. Возможно, это является следствием отсутствия преддетерминированной зародышевой линии клеток у растений. Эту точку зрения укрепляет факт отсутствия у арабидопсиса мейоз-специфичного аналога белка Scc3: на протяжении митоза и мейоза у арабидопсиса действует один и тот же белок (Chelysheva et al., 2005; Namant et al., 2006).

Кроме белков когезинового комплекса, структуру мейотических хромосом определяют конденсины, которые обладают схожей структурой. У млекопитающих и грибов конденсины необходимы для рекомбинации и спаривания гомологов (Hirano, 2012). Методами биоинформатики установлено, что в геноме арабидопсиса присутствуют гомологи всех генов, продукты которых формируют субъединицы конденсиновых комплексов у млекопитающих и грибов, однако они ещё плохо охарактеризованы, и их значение в мейозе растений до конца не выяснено. Известно, что мутации в генах арабидопсиса, продукты которых являются субъединицами конденсинового комплекса, приводят либо к гибели проростков, либо сильно снижают жизнеспособность и фертильность растений. Предполагают, что конденсины растений должны иметь функцию в мейозе, аналогичную конденсинам животных и грибов (Mainiero, Pawlowski, 2014).

У ржи *S. cereale* известна мутация *mei8*, которая имеет цитологическое проявление, схожее с мутацией *syn1* арабидопсиса. Для мутантов *mei8* характерна неравномерная конденсацию хроматина по длине мейотических хромосом: конденсированный хроматин чередуется с участками слабой конденсации. Мутация не влияет на процессы синапсиса гомологов и формирования веретена деления, а влияет только на конденсацию хромосом в мейозе. Предполагается, что мутация *mei8* может приводить к дефекту одного из компонентов когезинового или конденсинового комплекса, функционирующих в мейозе у ржи (Соснихина и др., 2005; Sosnikhina et al., 2005). У ржи также известна противоположная по цитологическому проявлению мутация — *mei10*. Мутация *mei10* вызывает сверхконденсацию хромосом, которую сопровождают остановки деления на разных стадиях мейоза. При электронномикроскопическом анализе у мутантов *mei10* выявляются утолщения латеральных элементов синаптонемного комплекса (СК) (Федотова и др., 1995). Мутации *mei8* и *mei10* ржи являются неаллельными (Соснихина и др., 2005; Sosnikhina et al., 2005).

## Гены формирования фигуры «букета»

**Лептотена и зиготена.** Переход от лептотены к зиготене у растений, как и у других эукариот, знаменуется кластеризацией теломер на ядерной мембране и формированием фигуры «букета» хромосом.

У кукурузы идентифицирована мутация *plural abnormalities of meiosis 1 (pam1)*, первичным дефектом которой является нарушение формирования «букета» (Golubovskaya et al., 2002). У мутантов *pam1* теломеры нормально прикрепляются к ядерной мембране, после чего формируется несколько групп их скопления. Однако одного общего кластера теломер не образуется. У мутантов также нарушен синاپсис гомологов. Однако количество сигналов белка RAD51 у мутантов не отличается от нормы. Изучение этого мутанта позволило сделать два вывода: 1) ранние события рекомбинации не требуют наличия «букета» хромосом; 2) процессы формирования букета и начальные этапы рекомбинации независимы друг от друга (Hamant et al., 2006).

Анализ ряда других мутаций кукурузы, у которых нарушено спаривание хромосом, но присутствует «букет» — *poor homologous synapsis 1 (phs1)*, *maize male sterile 25 (mms25)* и *desynaptic Chris Staiger (dsyCS)*, — дал основание полагать, что формирование фигуры букета и спаривание хромосом также являются независимыми процессами. Нет фактов, подтверждающих абсолютную необходимость «букета» для спаривания гомологов (Hamant et al., 2006). Однако нельзя исключать роль кластеризации теломер на ядерной мембране в облегчении попарного узнавания гомологов для их последующего своевременного спаривания.

У ржи известна асинаптическая мутация *synaptic 1 (sy1)* (Sosnikhina et al., 1992, 2005; Соснихина и др., 2005), одной из характеристик которой является нарушение формирования «букета». На стадиях, аналогичных зиготене и пахитене (нормального мейоза), у мутантов *sy1* отсутствует синাপсис гомологов: более чем в 99% клеток в МI содержатся только униваленты. С помощью FISH-зондов установлено, что у мутантов *sy1* нарушена кластеризация теломер на ядерной мембране во время лептотены и далее, когда у нормальных растений наступает зиготена. Кроме того, в отличие от мутантов *pam1* кукурузы, у мутантов *sy1* отсутствуют иммунофлуоресцентные сигналы белка RAD51 в профазе I (Sosnikhina et al., 1992, 2005; Mikhailova et al., 2001; Соснихина и др., 2005; Jenkins et al., 2005; Михайлова и др., 2010). Исходя из данных, полученных на кукурузе (согласно которым формирование «букета» и ранние события рекомбинации находятся под независимым генетическим контролем), можно предположить, что нарушение кластеризации теломер и загрузки RAD51 у мутантов *sy1* являются следствием более раннего дефекта. Подтверждением этого является факт выявления специфичной для мутантов *sy1* модификации белка GAPDH, ответственного за энергетический метаболизм в клетках (Михайлова и др., 2015).

## Мейотическая рекомбинация

Идентифицировано много генов растений, которые необходимы для осуществления мейотической рекомбинации. Благодаря высокой консервативности молекулярных механизмов рекомбинации у эукариот, стратегия обратной генетики стала мощным инструментом для изучения генов рекомбинации у растений, в частности, у арабидопсиса (Bhatt et al., 2001; Anderson, Stack, 2005; Ma, 2005).

**Формирование DSBs (лептомена).** Мейотическая рекомбинация инициируется двунитевыми разрывами ДНК (DSBs — Double-Strand Breaks), которые у дрожжей *S. cerevisiae* осуществляет белок Spo11. У кукурузы на сегодняшний день не идентифицировано генов, которые бы участвовали в этом процессе.

Белок SPO11-1 арабидопсиса является гомологом Spo11, он необходим для инициации мейотической рекомбинации (Grelon et al., 2001; Hartung, Puchta, 2001). В мейоцитах мутантов *atspo11-1* обнаруживаются единичные биваленты на стадии диакинеза. Это означает, что у этих мутантов рекомбинация подавлена не полностью (Grelon et al., 2001). Подобным образом ведут себя мутанты *atspo11-2* (Stacey et al., 2006).

У дрожжей для формирования DSBs, кроме Spo11, требуется девять вспомогательных белков (см. главу 4). Четыре из них имеют свои гомологи и у растений (RAD50, MRE11, NBS1, SKI8), однако ни один из этих белков не проявляет полного сходства функций между дрожжами и растениями (Jolivet et al., 2007). Методами прямой генетики обнаружен белок AtPRD1, который необходим для образования DSBs у арабидопсиса. Дигибридный анализ показал, что AtPRD1 взаимодействует с AtSPO11-1. Это является первым свидетельством наличия комплекса белков, который обеспечивал бы формирование DSBs у высших растений (De Muyt et al., 2007). Остальные белки-компоненты этого комплекса остаются неизвестными.

## Ранние гены мейотической рекомбинации

**Лептомена-зиготена.** У *S. cerevisiae* формирование и процессинг DSBs осуществляются с помощью белков комплекса MRX (MRN), который включает в себя белки Mre11, Rad50 и Xrs2/Nbs1 (Borde, 2007). Функции MRE11 и RAD50 были изучены у арабидопсиса. Оказалось, что у арабидопсиса MRX-комплекс необходим для процессинга DSBs, но не является обязательным для их формирования (Puizina et al., 2004; Bleuyard et al., 2004). Процессинг DSBs приводит к появлению одностранных концов ДНК, к которым присоединяются специальные белки, способствующие активному поиску гомологии, — RAD51 и DMC1 (Shinohara, Shinohara, 2004). RAD51 и DMC1 являются гомологами RecA, но, как оказалось, имеют различные функции в репарации DSBs в мейозе.

У кукурузы идентифицировано два гомолога: RAD51A и RAD51B. У двойных мутантов по этим генам наблюдается уникальный фенотип, который не характерен для мутантов *rad51* других организмов: спаривание, синапсис и хиазообразование между негомологичными хромосомами. Это свидетельствует в пользу необходимости присутствия RAD51 для нахождения хромосомами гомологии. В этом двойные мутанты *rad51* кукурузы фенотипически схожи с *ph* мутантами пшеницы, у которых разрешено гомеологичное спаривание хромосом (Rey et al., 2015). У двойных мутантов *rad51a*, *rad51b* дефекты белка RAD51 может частично компенсировать белок DMC1, и некоторые женские гаметы выживают (Li et al., 2007).

В случае арабидопсиса у мутантов *rad51* репарация DSBs отсутствует (Li et al., 2004), в то время как у мутантов *dmc1* репарация DSBs происходит, но по матрице сестринских хроматид (Couteau et al., 1999; Siaud et al., 2004). Исследователи предположили, что AtRAD51 инициирует поиск гомологии независимо от типа матрицы, а AtDMC1 способствует репарации по гомологичной хромосоме. Кроме белков AtRAD51 и AtDMC1, в репарацию DSBs у арабидопсиса вовлечены два паралога RAD51 — AtRAD51C и AtXRCC3. Анализ мутантов *atrad51c* и *atxrcc3* показал, что эти белки взаимодействуют с AtRAD51 на стадии репарации DSBs (Osakabe et al., 2002; Kerzendorfer et al., 2006).

Кроме того, у кукурузы есть ген *PHS1*, который является уникальным геном, вовлечённым в запуск механизмов инвазии нитей ДНК.

**Заключительные этапы мейотической рекомбинации. Зиготена-пахитена.** У растений так же, как и у других эукариот, существует два различных пути мейотической рекомбинации: кроссоверный и некроссоверный (Mezard et al., 2007). В свою очередь, в результате кроссинговера возникает два типа кроссоверов (CO). Тип I характеризуется наличием интерференции, в то время как для типа II свойственно случайное распределение кроссоверов по длине бивалента. Соотношение этих типов видоспецифично. Крайними вариантами являются нематода *C. elegans* (только тип I) и дрожжи *S. pombe* (только тип II). У дрожжей *S. cerevisiae* формирование COs I класса зависит от ZMM-белков (Zip1, Zip2, Zip3, Zip4, Msh4, Msh5 и Mer3) и в меньшей степени от белков Mlh1 и Mlh3. Формирование COs II класса обеспечивают Mus81 и Mms4 (Lynn et al., 2007).

Существование двух типов кроссинговера у растений было сначала предсказано (Copenhaver et al., 2002), а на данный момент подтверждено благодаря идентификации и описанию гена *Mus81* и гомологов ZMM-белков у арабидопсиса (Mercier, Grelon, 2008). У мутантов по ZMM-белкам не нарушены ранние события рекомбинации (присутствуют сигналы RAD51/DMC1), а синапсис нарушен незначительно. Тем не менее, наблюдается сильное подавление формирования COs. Максимальное снижение COs у мутантов *zmm* не превышает 85% от уровня дикого типа. Это говорит о том, что, как минимум, 15% COs у арабидопсиса являются ZMM-независимыми (II тип кроссинговера). В геноме арабидопсиса присутствуют два предполагаемых гена *Mus81*. Установлено, что один из них вовлечён в соматическую репарацию ДНК и участвует в образовании 9% мейотических кроссоверов. Вторым гомологом *Mus81* арабидопсиса является псевдогеном (Hartung et al., 2006; Berchowitz et al., 2007).

Андерсон и соавторы (Anderson et al., 2014), комбинируя иммунофлуоресцентную и электронную микроскопию, подробно изучили распределение по хромосомам кроссоверов двух типов у томата. Установили, что 18% кроссоверов у дикого типа томата относятся ко II типу. Для двух типов кроссинговера характерно различное распределение кроссоверов по длине хромосом: кроссоверы I типа локализуются преимущественно в дистальных районах хромосом (и преимущественно в длинных плечах), кроссоверы II типа — в прицентромерных районах (гетерохроматин). Наблюдается интерференция между кроссоверами I и II типов (Anderson et al., 2014).

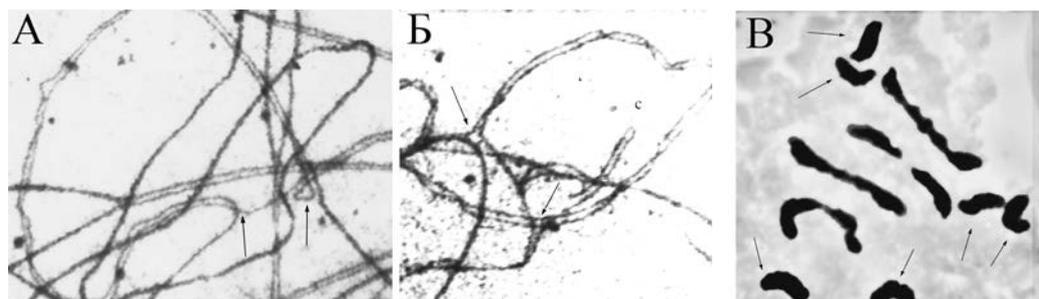
## ГЕННЫЙ КОНТРОЛЬ СПАРИВАНИЯ И СИНАПСИСА ГОМОЛОГИЧНЫХ ХРОМОСОМ

**Зиготена и пахитена.** Наиболее значимый вопрос в изучении мейоза — какие молекулярные явления обеспечивают узнавание и спаривание гомологичных хромосом? Такие факторы, как морфология хромосом, распределение специфичных последовательностей нуклеотидов в ДНК и связанные с ДНК белки, могут вносить определённый вклад в узнавание гомологичными хромосомами друг друга, но молекулярные механизмы этого сложного процесса остаются недостаточно изученными (Namant et al., 2006). Кластеризация теломер на ядерной оболочке, т.е. формирование фигуры букета и выравнивание хромосом, может обеспечить совпадение взаимного расположения гомологичных локусов в объёме ядра (см. раздел «Гены формирования фигуры “букета”»). Но узнавание гомологичных локусов и их взаимное притяжение должны иметь молекулярный механизм. Взаимный поиск гомологичных локусов тесно связан с процессами рекомбинации. Выше описаны мутации по генам *RAD51* и *DMC1* у кукурузы и арабидопсиса. Их изучение стало доказательством того, что ранние этапы рекомбинации (репарация DSBs) вовлечены в поиск гомологии и последующее спаривание и синапсис хромосом (Franklin et al., 1999; Pawlowski et al., 2003). Более того, фактически рекомбинация может являться способом поиска гомологии у растений (Namant et al., 2006).

Распределение *RAD51* было изучено у 20 мейотических мутантов кукурузы с нарушенным спариванием гомологов. Оказалось, что количество фокусов *RAD51* в ранней профазе I хорошо (и отрицательно) коррелирует с количеством унивалентов в метафазе I у 18 из 20 мутантов (Pawlowski et al., 2003; Namant et al., 2006). Это косвенное, но значимое указание на то, что белок *RAD51* вовлечен в процесс взаимного узнавания и спаривания гомологичных хромосом. Исключениями оказались мутанты *pam1* (Golubovskaya et al., 2002) и *dsy1*, у которых обнаруживается нормальное распределение *RAD51* при нарушенном синапсисе гомологов (Bass et al., 2003).

У кукурузы известен уникальный ген *PHS1*, который отвечает за загрузку ферментов рекомбинации, по крайней мере, белка *RAD51* (Pawlowski et al., 2004). В зиготене у мутантов *phs1* регистрируется в среднем 3 фокуса *RAD51* вместо 500 (у дикого типа). Результатом служит гетерологичный синапсис хромосом в пахитене. Это является ещё одним доказательством необходимости ранних ферментов рекомбинации для осуществления корректного спаривания гомологов. Ген *PHS1* был клонирован. Он кодирует белок, который не обладает значительным сходством с известными белками других организмов (Pawlowski et al., 2004). Мутанты *dsyCS* и *segII* кукурузы имеют цитологические фенотипы, схожие с цитологическим фенотипом мутантов *phs1* (гетерологичный синапсис хромосом), но соответствующие гены пока не клонированы.

У ржи описана обширная серия неаллельных мутаций с гетерологичным синапсисом хромосом: *sy2*, *sy6*, *sy7*, *sy8*, *sy10*, *sy11* (рис. 7.5), *sy18* и *sy19* (Sosnikhina et al., 2005; Соснихина и др., 2005, 2007, 2009; Голубцов и др., 2010). Мутации отличаются по силе проявления, но имеют идентичные качественные характеристики. При анализе СК на стадии пахитены у этих мутантов выявляются переключения пар-



**Рис. 7.5.** Цитологическое проявление мутации гетерологичного синапсиса *sy11* (*synaptic 11*) ржи. **А, Б** — электронно-микроскопический анализ окрашенных азотнокислым серебром СК. **А** — пахитена: смена партнеров спаривания (места «переключений» отмечены стрелками). Всего в ассоциации участвуют четыре латеральных элемента СК. **Б** — поздняя пахитена. Негомологичный синапсис привел к образованию сложной аномальной ассоциации латеральных элементов СК. Видны «переключения» (стрелки), «складка» и обширная зона асинапсиса. **Б'** — метафаза I: четыре открытых бивалента (в каждом по 1 хиазме) и шесть унивалентов (показаны стрелками), окрашивание ацетокармином (по Голубцову (ныне Симановский) и др., 2010).

тнеров спаривания и синапсис латеральных элементов «на себя». В МI наблюдается варьирующее число унивалентов и редкие мультиваленты. У мутантов *sy10* было изучено поведение хромосом в МI с использованием пяти FISH-зондов. Было установлено, что значительная часть бивалентов (39%) у мутантов образована негомологичными хромосомами (Jenkins et al., 2005; Mikhailova et al., 2006; Михайлова и др., 2010). Для этих же мутантов был проведен анализ распределения белков ASY1 и ZYP1 (Mikhailova et al., 2006). Оказалось, что оба белка присутствуют на осях мейотических хромосом, однако синапсис у мутантов *sy10* оказывается нарушенным. У ржи также известна мутация *synaptic 3* (*sy3*), которая препятствует полному завершению синапсиса в профазе I (Sosnikhina et al., 2005; Соснихина и др., 2005).

## Генный контроль сборки синаптонемных комплексов

Процесс взаимодействия гомологичных хромосом принято разделять на четыре этапа: поиск гомологии, пресинаптическое выравнивание, спаривание и синапсис, т.е. сборка СК (Loidl, 1990). Формирование СК является заключительным и решающим этапом взаимодействия гомологичных хромосом.

Нарушения в формировании синаптонемного комплекса являются наиболее часто встречающимися дефектами у мейотических мутантов, полученных с помощью подходов «прямой» генетики (forward genetic screens). Это объясняется тем, что дефекты синапсиса могут быть следствием нескольких первичных дефектов в когезии сестринских хроматид, гомологичном спаривании хромосом и рекомбинации. Так, у упоминавшихся выше мутантов *syn1* арабидопсиса и *afd1* кукурузы, у

которых отсутствует ключевой компонент когезинового комплекса — REC8, сборка СК не происходит (Bai et al., 1999; Golubovskaya et al., 2006). Это говорит о зависимости инициации сборки СК от надлежащей когезии сестринских хроматид. Напрямую на сборку СК влияют гены, которые кодируют структурные белки компонентов СК. У кукурузы на данный момент не известны мутации по таким генам. Но они известны у арабидопсиса и риса.

У мутантов *asynaptic1* (*asy1*) арабидопсиса нарушен синапсис гомологичных хромосом в профазе I. Ген *ASY1* был клонирован. Оказалось, что он кодирует белок, который обладает значительной гомологией в N-концевой части (домен NORMA) с белком Hop1, который является компонентом латеральных элементов СК у дрожжей (Caryl et al., 2000). В дальнейшем был идентифицирован гомолог этого гена у риса — *PAIR2* (Nonomura et al., 2004). Мутанты *asy1* арабидопсиса ( $2n = 10$ ) имеют асинаптический цитологический фенотип, однако для них характерно наличие единичных хиазм: в метафазе I в среднем обнаруживается 1,57 бивалент на клетку (Caryl et al., 2000). Мутанты *pair2* риса оказываются асинаптиками с более сильно выраженными фенотипами, так как в метафазе I наблюдаются только унивалентны (Nonomura et al., 2004). Фенотипы мутантов *hop1/asy1* у изученных организмов (дрожжи, нематода, арабидопсис, рис) имеют большую схожесть, что говорит о консервативности роли белка Hop1/ASY1 в построении СК у этих организмов (Hollingsworth et al., 1990; Zetka et al., 1999; Caryl et al., 2000; Nonomura et al., 2004). В построении ОЭ/ЛЭ в мейозе у животных участвуют другие белки — SYCP2 и SYCP3, — которые не обладают гомологией с белком Hop1 дрожжей (Grishaeva, Bogdanov, 2014).

Одной из характеристик асинаптического мутанта ржи *synaptic 9* (*sy9*) является нарушенная «загрузка» белка ASY1 на хромосомные оси. Для этих мутантов также характерны преждевременная выгрузка RAD51 из профазных мейоцитов, асинапсис хромосом и наличие только унивалентов в 2/3 мейоцитов, ярко выраженная спирализация ОЭ в диплотене, полная стерильность растений (Sosnikhina et al., 2005; Соснихина и др., 2005; Ловцюс и др., 2009; Михайлова и др., 2010; Симановский и др., 2014). У ржи также описана уникальная мутация *meib*, которая вызывает дефекты в строении латеральных элементов СК (Bogdanov et al., 1998). Дефекты представляют собой ультраструктурные выросты на латеральных элементах типа «шипов» и «перегородок». Предполагается, что такие аномалии возникают в результате модификации структуры белков, формирующих латеральные элементы СК, и/или в результате ошибок самосборки этих белков. Альтернативная гипотеза основывается на том, что имеет место достоверная отрицательная корреляция между числом выростов в субтерминальных сегментах СК и числом рекомбинационных узелков в этих сегментах. Поэтому не исключается, что возникновение аномальных выростов связано с дефектами формирования рекомбинационных узелков (Bogdanov et al., 1998; Sosnikhina et al., 2005; Соснихина и др., 2005).

У арабидопсиса известны два гена *ZYP1a* и *ZYP1b*, которые кодируют компоненты центрального элемента СК (Higgins et al., 2005). Наличие иммунофлуоресцентного сигнала AtZYP1 и у *zyp1a*, и у *zyp1b* мутантов, а также идентичность их цитологических фенотипов свидетельствуют о «взаимозаменяемости» этих генов. Оба белка присутствуют только в профазе I. Установлено, что инициация рекомбина-

ции необходима для загрузки AtZYP1 на хромосомные оси, но она не является достаточным фактором для превращения AtZYP1 в компонент ЦЭ. При отсутствии и AtZYP1a, и AtZYP1b наблюдается задержка мейоза; спаривание и синапсис хромосом отсутствуют в большинстве мейоцитов. Хиазмы, обнаруживаемые при отсутствии обоих белков AtZYP1, образуются как между гомологичными, так и между негомологичными хромосомами, т.е. отсутствие ZYP1 у арабидопсиса «разрешает» рекомбинацию между негомологичными районами хромосом.

Среди многих мутаций, нарушающих синапсис хромосом, весьма подробно изучена мутация *desynaptic2* (*dsy2*) кукурузы (Lee et al., 2015). Продукт гена *DSY2* входит в состав осевых элементов мейотических хромосом и участвует в формировании DSBs. У мутантов *dsy2* сильно снижено количество DSBs в клеточных ядрах мейоцитов и количество сигналов белка рекомбинации RAD51. Синапсис хромосом полностью отсутствует. Методом SIM-микроскопии сверхвысокого разрешения (*super-resolution structured illumination microscopy*) авторы установили, что белок DSY2 в составе осевых элементов хромосом в ранней профазе I мейоза чередуется с белком ASY1. У мутантов *dsy2* оказывается нарушенной локализация на осевых элементах другого белка, а именно ASY1, содержащего важный для СК домен NORMA. Далее эксперименты с дигибридной системой показали, что белок центрального элемента ZYP1 взаимодействует только с DSY2, но не с ASY1; было установлено, что DSY2 не только участвует в формировании DSBs, но и присоединяет центральный элемент к латеральным элементам СК (Lee et al., 2015).

Исследование белков СК у почкующихся дрожжей привело к предположению о существовании «контролирующего» механизма, который следит за развитием профазы I (Börner et al., 2004). Анализ особенностей распределения AtZYP1 показал высокую схожесть в генетическом контроле мейоза между арабидопсисом и почкующимися дрожжами. Предполагают, что у растений СК может действовать как «контролирующий» комплекс, который обеспечивает корректное осуществление процессов рекомбинации (Higgins et al., 2005).

## Гены спаривания и синапсиса хромосом у полиплоидов

У мягкой пшеницы *Triticum aestivum* известен ген *Ph1*, который координирует гомологичное спаривание хромосом у этого вида, имеющего три гомеологичных генома ( $2n = 6x = 42$ , AABBDD). В профазе I у пшеницы дикого типа сначала образуются мультиваленты гомеологичных хромосом, которые затем подвергаются коррекции. В результате коррекции в пахитене наблюдаются только биваленты гомологичных хромосом. Такая коррекция нарушена у *ph1* мутантов: многие мультиваленты сохраняются до метафазы I. Однако наличие аллеля дикого типа не предотвращает взаимодействия негомологичных (гомеологичных) хромосом в случае отсутствия гомологичной пары в пшенично-ржаных гибридах (Martinez-Perez et al., 2001). Это говорит о том, что разделение между гомологами и гомеологами происходит не сразу, а после начального этапа спаривания хромосом — выравнивания. Исходя из этого, можно сделать вывод, что ген *Ph1* необходим для устранения некорректного спаривания (Moore, 2002; Namant et al., 2006).

## Освобождение от когезии сестринских хроматид и роль белков-шугошинов

*Диплотена, диакинез и I деление мейоза.* Освобождение от когезии сестринских хроматид у эукариот осуществляется ферментом сепаразой, которая специфично расщепляет белок RAD21/REC8, что приводит к раскрытию кольца когезинового комплекса. Освобождение от когезии в плечах сестринских хроматид в конце профазы I необходимо для правильного расхождения гомологичных хромосом при редукционном делении в анафазе I. Сепараза не изучена у растений. Однако некоторые предполагаемые компоненты каскада реакций, которые обеспечивают снятие когезии, известны у арабидопсиса. Так, например, ген *SKP1-like1 (ASK1)* арабидопсиса кодирует гомолог белка SKP1 (S-PHASE KINASE ASSOCIATED PROTEIN 1) дрожжей и человека. У мутантов *ask1-1* нормально протекает метафаза I, но нарушена сегрегация хромосом в анафазе I. Это приводит к формированию не диад и тетрад микроспор, а «полиад» различного размера и хромосомного состава. Анализ веретена деления показал, что у мутантов оно не повреждено. Таким образом, нарушения в анафазе I у мутантов *ask1-1* связаны не с веретеном деления, а с неразъединением гомологов (Yang et al., 1999).

У растений дикого типа прицентромерные районы хромосом во время метафазы I и анафазы I защищены от действия сепаразы. Когезия сестринских хроматид сохраняется в них вплоть до эквационного деления в анафазе II. Аналогично млекопитающим и дрожжам, REC8 растений в центромерных регионах защищён от преждевременного расщепления специальными белками — шугошинами (SGO — shugoshin). У кукурузы известен ген *ZmSGO1*. При нормальном мейозе белок *ZmSGO1* присутствует в прицентромерных областях хромосом со стадии лептотены до телофазы I. У мутантов *zmso1* этот белок отсутствует, что приводит к преждевременной потере когезии центромер сестринских хроматид в метафазе I (Hamant et al., 2005). У арабидопсиса и риса также известны белки-шугошины AtSGOL1, AtSGOL2 и OsSGO1 (Wang et al., 2011; Cromer et al., 2013; Zamariola et al., 2014). Шугошины растений интересны тем, что, в отличие от шугошинов других эукариот, их экспрессия является мейоз-специфической (Cromer et al., 2013). Проблема гомологии шугошинов обсуждается в главе 16.

## Гены вступления в мейоз II

У арабидопсиса известен ген *OMISSION OF SECOND DIVISION 1 (OSD1)*, который контролирует вхождение в мейоз II (эквационное деление). У мутантов *osdl-1* и *osdl-2* мейоз I протекает неотличимо от дикого типа, но мейоз II не наступает. Результатом аномального мейоза у таких мутантов является образование диад диплоидных микро- и макроспор (вместо тетрад гаплоидных спор у дикого типа). В потомстве мутантов *osdl* обнаруживаются тетраплоиды (4n; самоопыление) и триплоиды (3n, при скрещивании с растениями дикого типа). В митозе у арабидопсиса функционирует паралог гена *OSD1* — *UVI4*. Повреждение *UVI4* приводит к эндоредупликации (D'Erfurth et al., 2009).

В остроумном эксперименте исследователи мейоза у арабидопсиса путём последовательных скрещиваний объединили мутации *osd1*, *rec8* (отсутствие когезии сестринских хроматид) и *spo11-1* (отсутствие DSBs и рекомбинации) в одном генотипе. У полученных тройных мутантов мейоз оказался полностью заменён на митоз. В результате деления из спороцитов образовывались фертильные диплоидные споры, являющиеся полными клонами спороцитов. При самоопылении тройных мутантов образуются растения-клоны с удвоением уровня плоидности в каждом последующем поколении. Мутантный генотип *spo11-1/rec8/osd1* был назван *MiMe* (mitosis instead of meiosis) (D'Erfurth et al., 2009). Позже, с использованием мейотических мутаций риса, был получен генотип *MiMe* у этого растения (Mieulet et al., 2016).

## Заключение

На 2017 г. было известно 39 специфических генов мейоза у кукурузы (Cande et al., 2009), 28 генов у риса (Mieulet et al., 2016) и примерно 80 генов у арабидопсиса (Lambing et al., 2017). Сравнение генов мейоза у злаков, кукурузы и риса с генами крестоцветного растения *A. thaliana* показывает, что существуют серии генов с одинаковым фенотипическим проявлением в мейозе. Это гены *MAC1* кукурузы, *TDL1* риса и *TPD1* арабидопсиса; *AM1* кукурузы и *SWI1* арабидопсиса; *AFD1/ZmREC8* и *SYN1/AtREC8*; *ASY1* арабидопсиса и *PAIR2* риса и другие. Мутации этих генов приводят к сходным аномалиям в структуре и поведении хромосом и других клеточных органелл в ходе мейоза. Такое сходство соответствует на клеточном уровне Вавиловскому закону гомологических рядов наследственной изменчивости (Богданов, 2003, 2004). Логично предполагать, что в основе гомологии фенотипических аномалий лежит гомология кодирующих последовательностей ДНК соответствующих генов. В постгеномную эпоху это проверяется методами биоинформатики с использованием полных последовательностей геномов таких видов, как *A. thaliana*, *Z. mays*, *O. sativa*, *T. aestivum*, *S. lycopersicum*. Не исключено, что при решении такой задачи возможно выявление различий во внутренней структуре генов и их регуляторных участков, если они известны. Кроме того, развиваются исследования мейоз-специфичной экспрессии генов, основанные на анализе транскриптомов тех же модельных видов (Zhou, Pawlowski, 2014). Они позволяют обнаружить различия как в уровне экспрессии генов на различных этапах мейоза, так и различия в сплайсинге, отраженные в преобладающих изоформах матричных РНК.

Сравнение последовательностей аминокислот некоторых сходных по функции белков мейоза у организмов, относящихся к одному таксономическому классу и даже типу, показало совпадение не ниже 70% (Stassen et al., 1997; Гришаева, Богданов, 2017). Но это выявлено пока только по отношению к некоторым ключевым белкам рекомбинации животных (*RAD51*, *DMC1* и *MLH1*), совершенно не соблюдается для эндонуклеазы *SPO11* и для многих белков синаптомных комплексов (Гришаева, Богданов, 2017).

До сих пор не известна природа серии мутаций гетерологичного (неразборчивого) синапсиса *sy2*, *sy6*, *sy7*, *sy8*, *sy10*, *sy11*, *sy18* и *sy19* у диплоидной ржи (Sosnikhina et al., 2005; Соснихина и др., 2005, 2007, 2009; Голубцов и др., 2010). По крайней

мере, три из этих генов — *sy10*, *sy19* и *sy18* — неаллельны и локализованы в разных хромосомах (Долматович и др., 2013а, б). Отсутствие аллелизма этих генов одинакового действия наводит на мысль о регуляторной функции этих генов в спаривании и синапсисе хромосом. Можно предполагать, что такие гены могут контролировать разные этапы этих многоэтапных процессов. Важно, что мутации этих генов обнаружены у диплоидной ржи, в мейозе у которой, в отличие от аллополиплоидной пшеницы *T. aestivum*, нет необходимости предотвращать синапсис гомологичных хромосом, но, как и у всякого диплоидного организма, есть необходимость препятствовать синапсису просто негомологичных хромосом. Из самых общих соображений высказывалось предположение, что такие гены могут быть генами мейоз-специфичных протеинкиназ и протеинфосфатаз (С.П. Соснихина, личное сообщение). Такое предположение основывается на том, что протеинкиназы и протеинфосфатазы важны как регуляторы метаболизма любого клеточного деления, в том числе и мейоза. При этом очевидно, что мутации *sy2*, *sy6*, *sy7*, *sy8*, *sy10*, *sy11*, *sy18* и *sy19* ржи являются мутациями мейоз-специфичных генов, ибо гомозиготные по этим мутациям растения имеют дефекты митоза на стадии зародышей, не гибнут из-за аномалий делений соматических клеток, а проходят весь цикл вегетативного развития до формирования спорогенных клеток, прохождения ими мейоза и формирования анеуплоидных стерильных микро- и макроспор, а у полустерильных мутантов *sy2* и *sy11* — даже до получения немногочисленного потомства (Соснихина и др., 2005; Голубцов и др., 2010).

## Глава 8.

# Хронология мейоза

Ю.Ф. Богданов, Н.А. Ляпунова, С.А. Симановский

У всех организмов самой длительной стадией мейоза является пахитена. Это обусловлено многочисленностью и сложностью процессов на молекулярном уровне, происходящих с хромосомами. Длительность мейоза у растений прямо пропорциональна массе ДНК в геноме. При повышении температуры среды длительность мейоза у растений и холоднокровных животных сокращается.

Характерная особенность деления клеток путём мейоза, в отличие от деления путём митоза, состоит в том, что мейоз оказывается процессом более длительным, чем митоз у тех же видов растений, грибов и животных. Существует несколько методов исследования длительности мейоза. В принципе они не отличаются от методов, применяемых для митоза, однако большая продолжительность мейоза, а также синхронность и сезонность мейоза у многих объектов обуславливают некоторые особенности способов изучения его хронологии.

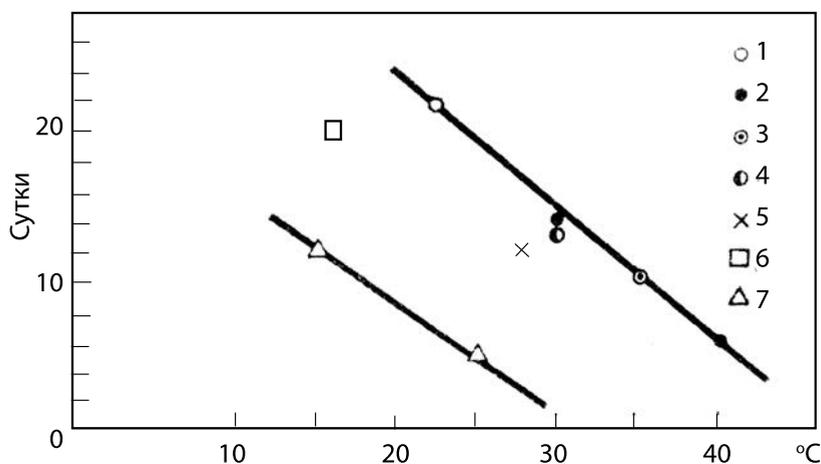
У растений и грибов мейоз проходит один раз в сезон (высшие многолетние растения) или один раз в жизненном цикле (грибы и некоторые водоросли, однолетние высшие растения). Некоторые виды цветковых растений обладают синхронным мейозом в ходе микроспорогенеза. У таких растений продолжительность стадии мейоза, как правило, коррелирует с размерами бутона и пыльника, как это наблюдается у лилии *Lilium longiflorum* (Taylor, McMaster, 1954; Ito, Stern, 1967; Suzuki et al., 1997) и некоторых других лилейных (Sauerland, 1956; Строков, 2007; Huang et al., 2010). У этих объектов можно проследить длительность разных стадий мейоза, исследуя мейоциты в бутонах по мере их развития. Хорошим объектом для изучения хронологии мейоза являются грибы рода *Coprinus*, у которых все базидии одного плодового тела развиваются синхронно, и, отрывая по очереди пластинки с базидиями, можно цитологически определять стадию мейоза, оставляя плодовое тело с другими пластинками развиваться дальше, и следить по часам за появлением новых стадий мейоза (Raju, Lu, 1970; Zolan, Pukkila, 2009).

О длительности отдельных стадий мейоза у млекопитающих можно судить по наблюдениям над кинетикой клеток в герминативном эпителии семенников. Для изучения динамики мейоза у обезьяны и мыши был применен метод, использовавшийся в 30–50-х годах для исследования длительности митоза: на семенники воздействовали ионизирующими излучениями в такой дозе, которая приводила к блокированию перехода клеток из интерфазы в профазу I мейоза, а клетки, уже находившиеся в профазе, завершали мейоз. По кинетике исчезновения морфологических картин мейоза судили о длительности соответствующих стадий (Oakberg, 1956; Rosiepen et al., 1997; Fallahi et al., 2010). Наиболее распространенным во второй половине XX в. стал метод введения радиоактивной метки (меченый тритием тимидин,  $^3\text{H-T}$ ) в ДНК и наблюдения за появлением меченых ядер и хромосом

в определенных стадиях мейоза с помощью автордиографии. С помощью этого метода было осуществлено большинство классических исследований хронологии мейоза у растений и животных, которые до сих пор не потеряли своей актуальности и широко цитируются (табл. 8.1 и 8.2). Начиная с 90-х годов XX в., метод введения радиоактивной метки заменяется мечением вновь синтезированной ДНК с помощью 5-бромдезоксисуридина (BrdU, БДУ), аналога тимидина, который можно обнаружить с помощью иммунофлуоресцентного анализа с использованием анти-BrdU антител. Это позволяет избежать более трудоемкой автордиографической регистрации времени репликации ДНК и прохождения стадий мейоза, а также дает более точную локализацию реплицированных сайтов ДНК (Rosiepen et al., 1997; Armstrong et al., 2003).

У животных исследования длительности мейоза проведены в основном в процессе сперматогенеза. Это объясняется тем, что в оогенезе у позвоночных животных, в том числе и у человека, яйцеклетки останавливаются в развитии на несколько месяцев и даже лет на стадии диплотены или диффузной стадии ядра (см. гл. 6). Особенности хронологии этих событий скорее относятся к области эмбриологии, чем собственно мейоза. Кроме того, накопление желтка в яйцеклетке сильно затрудняет цитологическое исследование. В тех случаях, когда изучена длительность ранних стадий мейоза в сперматогенезе и оогенезе одного и того же вида (например, у мыши), она оказывается практически одинаковой (Lima-de-Faria, Vorum, 1962; Monesi, 1964).

Длительность периода от прелептотены до образования сперматид у самцов теплокровных животных сравнительно мало варьирует от вида к виду и составля-



**Рис. 8.1.** Зависимость длительности мейоза (от начала лептотены до конца второго деления мейоза) от температуры у холоднокровных животных.

1 — кузнечик *Romalea microptera*; 2 — саранча *Schistocerca gregaria*; 3 — кузнечик *Melanoplus differentialis*; 4 — кузнечик *Stethophyma grossum*; 5 — сверчок *Acheta domesticus*; 6 — тритон *Triturus vulgaris*; 7 — рыба *Oryzias latipes*. По: Ляпунова, Богданов, 1975.

ет обычно 15–25 суток (табл. 8.1). У холоднокровных животных (позвоночных и беспозвоночных) различия от вида к виду выражены больше: от 5 до 25 суток. При этом у близких видов или даже у одного вида в некоторых случаях удается заметить закономерную зависимость длительности мейоза от температуры среды: чем выше температура среды, тем быстрее проходит мейоз (рис. 8.1). Это обстоятельство используют в экспериментальной работе: понижение температуры удлиняет сроки прохождения стадий мейоза и делает их более доступными для наблюдения.

Наиболее продолжительной стадией мейоза у животных оказывается пахитена (табл. 8.1). Диакинез и два деления мейоза проходят, как правило, весьма быстро.

Длительность мейоза у растений разных видов сильно варьирует. Общее время от лептотены до появления тетрад микроспор варьирует от 6 часов у губоцветного львиного зева (*Antirrhinum*) до 10–12 суток и даже нескольких месяцев у многолетних растений. Как правило, наиболее продолжительной стадией оказывается лептотена (табл. 8.2). Длительность мейоза у растений связана с особенностями биологии вида: у однолетних растений с короткой вегетацией мейоз обычно протекает быстрее, чем у многолетних. Среди изученных видов наибольшая продолжительность мейоза наблюдается у сосны *Pinus larico*, у которой профазы I мейоза развивается в течение всей зимы и деления мейоза проходят в апреле–мае (Chamberlain, 1935). Аналогичная картина выявлена у некоторых лилейных, например, у *Trillium kamtschaticum*. Зависимость длительности мейоза от температуры у растений прослежена лучше, чем у животных. Так, например, у колокольчика *Endymion nonscriptus* изменение длительности мейоза с изменением

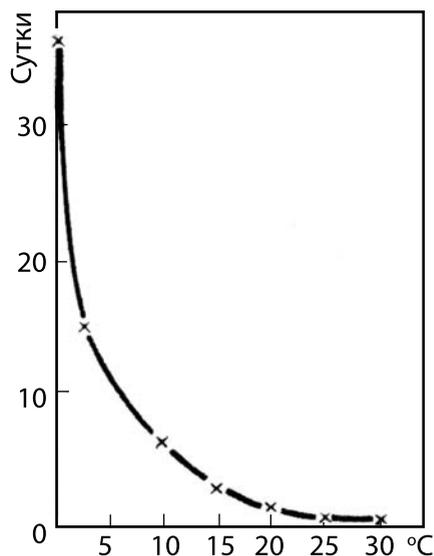


Рис. 8.2. Зависимость длительности мейоза от температуры у колокольчика *Endymion nonscriptus* (Wilson, 1959).

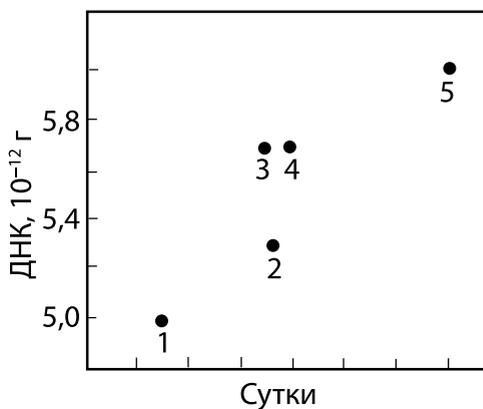


Рис. 8.3. Зависимость между длительностью мейоза и количеством ДНК (2С) в ядре для четырех видов млекопитающих и человека (Bennett, 1971). 1 — *Mus musculus*, 2 — *Ovis*; 3 — *Oryctolagus*; 4 — *Rattus*; 5 — *Homo sapiens*.

Таблица 8.1.

Длительность (в сутках) стадий мейоза в сперматогенезе у животных (из: Ляпунова, Богданов, 1975).

Объект	Метод и условия исследования	Прелептотена	Лептотена	Зитотена	Пахитена	Диплотена	Диакинез, MI и MII	Спермиогенез	Время до появления спермы	Источник
<b>Млекопитающие</b>										
Человек <i>Homo sapiens</i>	<sup>3</sup> H-T, ДПЭ	1	6,5	15,5	0,8	24	48	Heller, Clermon, 1963		
Макака-резус <i>Macaca mulatta</i>	Рентгеновское излучение	1,4	1,6	2	10,5	1,0	0,5	32	Арсеньева и др., 1961	
Баран	<sup>32</sup> P, ДПЭ	3,4	1,5-2,5	4,5-6	2,4-3,5	14-15	26-31	Ortavant, 1959		
Кролик <i>Oryctolagus cuniculus</i>		15	15	10	25	Swierssta, Foote, 1965				
Крыса <i>Rattus</i> sp.	<sup>3</sup> H-T, ДПЭ	3,3	2,5	2,7	12,4	0,7	0,5	34,5	Clermont et al., 1959	
Мышь <i>Mus musculus</i>	<sup>3</sup> H-T, ДПЭ	1,3	1,5	1,6	6,0	0,8	0,8	34,5	Monesi, 1964	
Китайский хомячок <i>Cricetulus griseus</i>	<sup>3</sup> H-T	2,5	2,0	15,0	1,2	14	35	Utakoji, 1966		
<b>Рыбы</b>										
Медака <i>Oryzias latipes</i>	<sup>3</sup> H-T, 25°C	<0,4	3,5	<1	7	12	Egami, Hyodo-Tagushi, 1967			
	<sup>3</sup> H-T, 15°C	1	10	1	8	20				
<b>Амфибии</b>										
Тритон <i>Triturus vulgaris</i>	<sup>3</sup> H-T, 16°C	5	8	4-5	1-2	1-2	-	Callan, Taylor, 1968		
Тритон <i>T. viridescens</i>	<sup>3</sup> H-T, 22°C	12	12	-	-	-	-	Wimber, Prenskey, 1963		

Таблица 8.1. (окончание)

Объект	Метод и условия исследования	Препролептогена	Лептогена	Зитогена	Пахитена	Диплотена	Диакинез, MI и MII	Спермиогенез	Время до появления спермы	Источник
<b>Иглокожие</b>										
Морской ёж <i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	$^3\text{H-T}$	7				7		4	11	Holland, Giese, 1965
<b>Моллюски</b>										
Садовая улитка <i>Helix aspersa</i>	$^3\text{H-T}$	1,3-2,5	4-8	11-13		2-3		9-10	32	Bloch, New, 1960
<b>Членистоногие</b>										
<i>Drosophila melanogaster</i>	$^3\text{H-T}$	4	4	4		<1		2-3	8-9	Chandley, Bateman, 1962
Саранча <i>Schistocerca gregaria</i>	$^3\text{H-T}$ , 30°C	12		12		2		-	-	
	$^3\text{H-T}$ , 40°C	5		5		1		-	-	Henderson, 1966
Кузнечик <i>Stethophyma grossum</i>	$^3\text{H-T}$ , 30°C	11,5		11,5		2		-	-	Jones, 1971
Кузнечик <i>Melanoplus differentialis</i>	$^3\text{H-T}$ , 35°C	8		8		2		12	22	Muckenthaler, 1964
Кузнечик <i>Romalea microptera</i>	$^3\text{H-T}$ , 20-25°C	20-24		20-24				25	50	Taylor, 1965
Водяной ослик <i>Aseilus aquaticus</i>	$^3\text{H-T}$	1	2	5		2		7	17-19	Rocchi Brasiello, Vitagliano Tadini, 1969
Водяной ослик <i>A. coxalis</i>	$^3\text{H-T}$	1	7-8	7-8				4-6	12-14	Rocchi Brasiello, 1967
Сверчок <i>Acheta domestica</i>	$^3\text{H-T}$ , 28°C	2-4	2-3	6-9		2		17-18	33	Ляпунова, Зосимовская, 1973

$^3\text{H}$  — тимидин, меченный радиоактивным тритием. ДПЭ — динамика пролиферативного эпителия.

Таблица 8.2.

Длительность (в часах) мейоза у растений и грибов (из: Ляпунова, Богданов, 1975 с дополнениями).

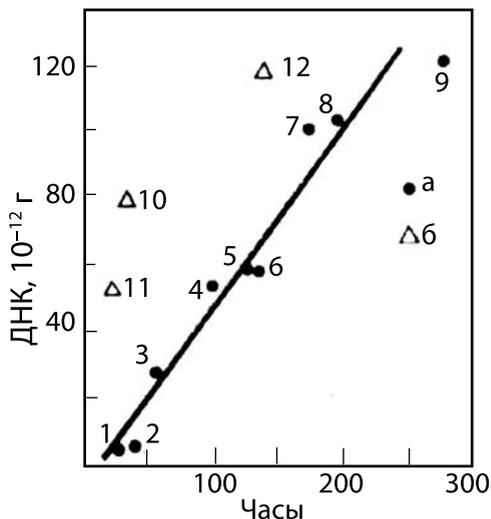
Вид	Метод и условия опыта	Лепто-тена	Зиготена	Пахитена	Диплотена, диакинез	МІ – МІІ	Весь мейоз	Источник
Дрожжи <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Хронометрия	–	–	–	–	–	4	Simchen et al., 1972
Хламидомонада <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Хронометрия, 30°C	–	–	–	–	–	8	Chiang, Sueoka, 1967
Гриб <i>Sporopogon lagopus</i>	Хронометрия, 25°C	–	4	5	4,5	2	15,5	Raju, Lu, 1970
Тритикале × <i>Triticosecale</i>	<sup>3</sup> H-T, 20°C	7,5	3	2,3	6,5	20,8		
Мягкая пшеница <i>Triticum aestivum</i>	<sup>3</sup> H-T, 20°C	10,4	3,4	2,2	1	7	24	Bennett et al., 1971
Львиный зев <i>Antirrhinum majus</i>	Хронометрия	6	3	3	12	24	24	Ernst, 1938
<i>Rhoeo discolor</i>	Хронометрия	–	–	–	24	48	48	Vasil, 1959
Рожь <i>Secale cereale</i>	<sup>3</sup> H-T, 20°C	20	11,4	8	10,8	51,2	51,2	Bennett et al., 1971
Лук репчатый <i>Allium cepa</i>	Хронометрия	–	72	–	24	96	96	Vasil, 1959
<i>Tradescantia paludosa</i>	Хронометрия	48	24	24	13	126	126	Taylor, 1950
<i>T. reflexa</i>	Хронометрия	–	111	–	33	144	144	Sax, Edmonds, 1933
<i>Tulbaghia violacea</i>	Хронометрия, 20°C	–	102	–	28	130	130	Taylor, 1958
Лилия белая <i>Lilium candidum</i>	Хронометрия, 20°C	40	40	40	24	168	168	Sauerland, 1956
<i>L. longiflorum</i>	Хронометрия, 23°C	48	24	72	24	–	–	Taylor, McMaster, 1954
	Хронометрия, 20°C	40	36	40	48	192	192	Ito, Stern, 1967
<i>Trillium erectum</i>	Хронометрия, 20°C	70	70	50	64	274	274	Ito, Stern, 1967
	BrdU	6	15,3	–	2,7	24	24	Armstrong et al., 2003
<i>Arabidopsis thaliana</i>	EdU	5	6	10	1	–	–	Stronghill et al., 2014

температуры от 0 до 30° имеет экспоненциальный характер (рис. 8.2) и оказывается таким же, как и в митозе (Brown, 1951).

У разных видов диплоидных растений, как и у животных, продолжительность мейоза увеличивается с увеличением количества ДНК на ядро (рис. 8.3, 8.4). Однако при увеличении пloidности у растений мейоз протекает тем быстрее, чем выше степень пloidности.

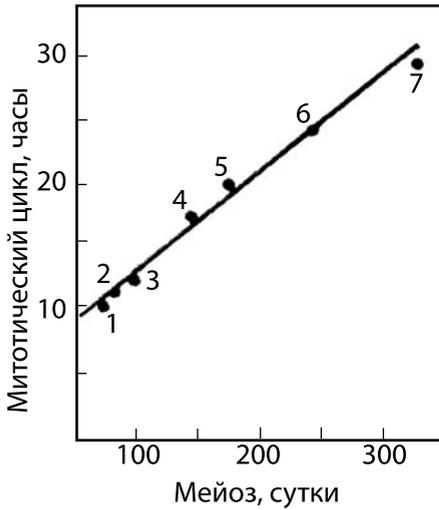
Кроме того, у всех исследованных растений длительность мейоза оказывается прямо пропорциональной длительности митоза при той же температуре (рис. 8.5). Это позволяет предположить, что на скорость митоза и мейоза влияют как объем генетической информации ядра, так и видовая специфика организации хромосом, например, число и размер единиц репликации (репликонов), составляющих хромосому (Lяпунова, 1996).

В практике звероводства и животноводства хорошо известен факт гормональной регуляции интенсивности сперматогенеза. Для выяснения того, как гормоны влияют на мейоз, производили гипофизэктомию у крыс. Это приводило к резкому снижению выхода спермы. Введение таким животным тестостерона, гонадотропина, фолликулостимулина и других гормонов стимулировало выход спермы. Однако длительность собственно мейоза, исследованная при помощи  $^3\text{H}$ -тимидина, не изменялась. Это значит, что регуляция осуществляется либо путем задержки клеток на стадии прелептотены, либо увеличением числа клеток, вошедших в мейоз, либо нарушением или ускорением процесса спермиогенеза — формирования спермы из сперматид (Clermont, Morgentaler, 1955; Harvey, Clermont, 1962; Desclin, Ortavant, 1963; Райцина, 1967). Установлено (Ortavant, 1956), что выход спермы у барана зависит от продолжительности светового дня, а скорость мейоза оказывается неизменной. Было обнаружено, что обработка ооцитов китайского хомячка, культивируемых *in vitro*, гормоном яичника тестостероном, действительно приводит к задержке клеток в  $G_2$ -периоде, не нарушая при этом синтеза ДНК в S-периоде (Remington, Klevecz, 1973). Существование физиологической регуляции вступле-



**Рис. 8.4.** Зависимость длительности мейоза (от лептотены до конца второго деления) от количества ДНК в ядре у девяти видов диплоидных и трех видов полиплоидных растений (Bennett, 1971).

а — диплоиды, б — полиплоиды; 1 — *Antirrhinum majus*, 2 — *Haplopappus gracilis*, 3 — *Secale cereale*, 4 — *Allium cepa*, 5 — *Tradescantia paludosa*, 6 — *Tulbaghia violacea*, 7 — *Lilium henryi*, 8 — *Lilium longiflorum*, 9 — *Trillium erectum*, 10 — октоплоид *Triticale*, 11 — гексаплоид *Triticum aestivum*, 12 — тетраплоид *Tradescantia paludosa*.



**Рис. 8.5.** Зависимость между длительностью мейоза (от начала лептотены до конца второго деления) и длительностью митотического цикла у семи видов растений (Bennett, 1971)

1 — *Triticum aestivum*, 2 — *Haplopappus gracilis*, 3 — *Secale cereale*, 4 — *Allium cepa*, 5 — *Tradescantia paludosa*, 6 — *Lilium longiflorum*, 7 — *Trillium erectum*.

ния сперматогониев в мейоз отмечает­ся у насекомых (Ляпунова, Зосимов­ская, 1973). Вероятно, этот механизм имеет широкое распространение среди животных. Примеров воздействия гормонов на сам ход мейоза пока нет и, вероятно, раз начавшись, мейоз идет «автоматически», не нуждаясь в стимуляторах.

Таким образом, длительность мейоза у всех исследованных видов животных и растений превышает длительность митоза. Длительность мейоза в сперматогенезе млекопитающих является постоянной для вида величиной, независимой от гормональных воздействий, но коррелирующей с количеством ДНК в ядре. Длительность мейоза у холоднокровных животных и растений также видоспецифична, но существенно зависит от температуры окружающей среды. Поэтому наиболее удобным временем суток для исследования мейоза у растений в дикой природе и на экспериментальном поле являются ранние утренние часы (на рассвете), когда уже светло, но еще почти сохраняется ночная пониженная температура и продолжительность всех стадий мейоза выше,

чем в теплые дневные часы. В этих условиях вероятность обнаружить быстро­про­ходящие стадии мейоза выше, чем в тёплые дневные часы.

# Часть III. ИЗМЕНЧИВОСТЬ МЕЙОЗА

## Глава 9.

### Мейоз у делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*

Гаплоидные дрожжи *S. pombe* ( $n=3$ ) имеют зиготный мейоз. Диплоидные штаммы *S. pombe* тоже могут делиться путем мейоза. Это «отложенный», незиготный мейоз. В том и другом случаях причиной перехода от деления путем митоза к мейозу служит голодание клеток из-за снижения содержания азота в среде. Мейоз у *S. pombe* характеризуется необычной профазой I. Теломеры трех пар длинных хромосом контактируют с ядерной оболочкой в той её области, где на её внешней поверхности располагается полярное тело веретена (ПТВ), и образуют фигуру «букета». ПТВ осциллирует по длинной оси клетки с помощью тянущих нитей цитоплазмы и увлекает за собой верхушку ядра с прикрепленными теломерами хромосом. При этих перемещениях ПТВ ядро многократно приобретает и теряет форму груши с верхушкой, направленной в сторону осциллирующего ПТВ. Длинные хромосомы, влекаемые теломерами, совершают полоскательные движения, напоминающие взмахи конского хвоста. Эта часть профазы I называется «стадией конского хвоста». Она заменяет стадии лептотены, зиготены и пахитены канонического мейоза. На этой стадии совершается кроссинговер. Он не подвержен интерференции. Хромосомы имеют продольные белковые структуры – линейные элементы, но синаптонемные комплексы не формируются. Белки рекомбинации контактируют с линейными элементами хромосом. Два деления мейоза проходят без разрушения ядерных оболочек, и образуется тетрада гаплоидных спор.

### Жизненный цикл *S. pombe*

Делящиеся дрожжи *Schizosaccharomyces pombe* (Taphrenomycetes) имеют геном примерно такого же размера ( $13,8 \times 10^6$  пар нуклеотидов, Мпн), как и почкующиеся дрожжи *S. cerevisiae*, но состоящий всего из трех пар довольно крупных хромосом, в отличие от 16 пар мелких хромосом *S. cerevisiae*. У *S. pombe* хромосома I содержит 5,7 Мпн, хро-

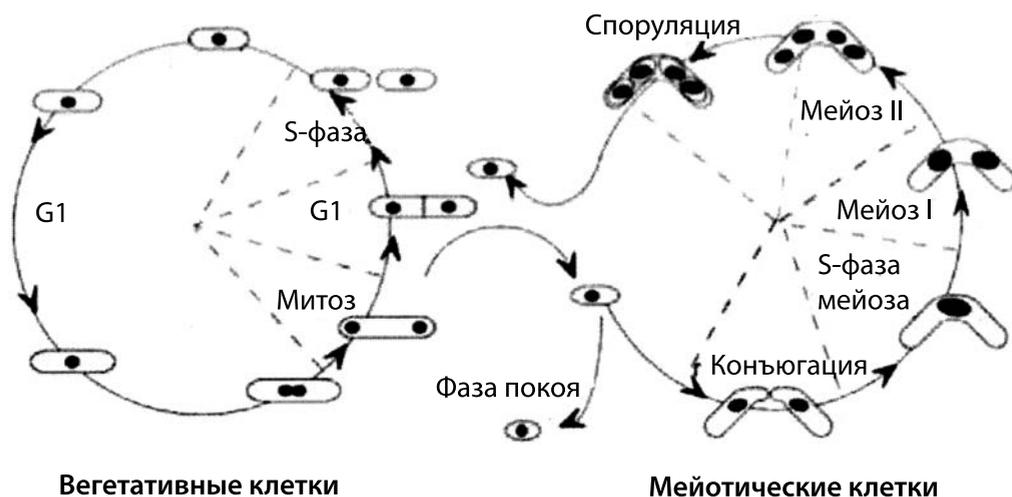


Рис. 9.1. Жизненный цикл делящихся дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*

мосома II — 4,6 Мпн, хромосома III — 3,5 Мпн. Клетки *S. pombe* могут жить и пролиферировать как в диплоидной, так и в гаплоидной фазе жизненного цикла. Клетки *S. pombe* имеют форму коротких палочек с выраженным ядром, в котором находятся три хромосомы примерно одинаковой длины. Деление цитоплазмы при митозе и мейозе происходит путем построения клеточной перегородки (Камзолкина, Дунаевский, 2015).

Диплоидные клетки могут существовать и размножаться путем митоза только в богатой азотом среде. Но диплоидное состояние неустойчиво. При неблагоприятном изменении среды, особенно при снижении содержания азота, дрожжи немедленно переходят к мейозу и образуют тетрады гаплоидных микроспор (рис. 9.1).

Гаплоидные дрожжи *S. pombe*, живущие в богатой питательной среде, также размножаются путем митоза и так же, как диплоидные штаммы, при снижении содержания азота ниже критического переходят к мейозу. В данном случае это зиготный мейоз (см. гл. 1). Накануне такого мейоза гаплоидные клетки, относящиеся к противоположным типам спаривания ( $h^+$  и  $h^-$ ), копулируют. Слияние гаплоидных клеток противоположного типа спаривания диктуют феромоны, выделяемые клетками. Их ядра сливаются и немедленно вступают в мейоз. В результате мейоза образуются дугообразной формы тетрады гаплоидных микроспор (рис. 9.1). Микроспоры могут активироваться и начать размножаться митозом в богатой питательной среде.

## Смена фаз жизненного цикла

Анализ стерильных мутантов *S. pombe*, полученных в ранних исследованиях 1960–1980 гг. (обзор: Yamamoto et al., 1997), в том числе молекулярное клонирование генов, вовлеченных в контроль фертильности, позволили установить, что развитие по пути полового размножения индуцируется двумя главными сигнальными

системами. Одна из них реагирует на питательную среду, другая — на сигнальные гормоны размножения, феромоны.

**Роль питательной среды в инициации мейоза.** Гаплоидные клетки *S. pombe* обладают одним из двух типов спаривания:  $h^+$  (Р) или  $h^-$  (М). Гомоталлические штаммы *S. pombe*, обозначаемые как  $h^{90}$ , меняют свой тип спаривания в ходе пролиферации, в то время как гетероталлические имеют фиксированный тип спаривания — Р или М. Они наиболее стабильны в гаплоидном состоянии и, по существу, асексуальны, если живут в условиях среды, достаточной для их питания. Но они начинают развиваться в сторону полового размножения, когда оказываются в условиях голодания. Таким образом, в отличие от *S. cerevisiae*, дрожжи *S. pombe* наиболее устойчивы и жизнеспособны в гаплоидной фазе жизненного цикла. По сути, они остаются вегетативно размножающимися клетками, пока хорошо питаются. Но когда среда становится бедной азотом, клетки попарно копулируют, образуя зиготы. В зиготах начинается мейоз.

Только что возникшая зигота уже готова идти по пути мейоза, если копуляция двух гаплоидных клеток произошла в условиях голодной среды: в среде, лишенной азота и глюкозы (Egel, 1973). Если среда богата этими веществами, зигота может размножаться как диплоидная клетка, но как только эти питательные вещества в среде истощаются, зигота вступает в мейоз. В обоих случаях — при немедленном и при отложенном мейозе — это один и тот же путь метаболизма, ведущий к мейозу.

В начале пути к мейозу зиготы временно остановлены в развитии на стадии  $G_1$ , затем начинают один раунд репликации ДНК — премейотический синтез ДНК (премейотическая S-фаза). В результате количество ДНК в ядре зиготы достигает уровня 4С. После этого в зиготе начинается генетическая рекомбинация: кроссоверные обмены между гомологичными хромосомами или некроссоверные обмены между сестринскими хроматидами. Затем наступают деления мейоза I и мейоза II. В итоге из одной зиготы образуется четырёхъядерная клетка (четырёхспоровая сумка), ядра которой содержат по 1С ДНК.

Скрещивание (mating) гаплоидных клеток, ведущее к мейозу, и споруляция — это разные, но последовательные процессы, имеющие у *S. pombe* общий сигнальный путь управления, общую регуляцию. Этим *S. pombe* отличается от *S. cerevisiae*, у которых регуляторные пути мейоза и споруляции разделены. Это аргумент в пользу того, что *S. pombe* более архаичный (древний) организм, чем *S. cerevisiae*, ибо разделение, а значит, усложнение регуляции работы генов — признак прогресса. Есть, однако, и другое мнение: мейоз изначально был сложно организованным процессом, а у *S. pombe* произошла потеря некоторых признаков, дегенерация (Loidl, 2016).

**Сигнал запуска мейоза.** В голодной среде внутриклеточный уровень цикломонифосфата (сАМР) понижается, и низкий уровень сАМР служит сигналом, запускающим экспрессию гена *ste11*. Продукт этого гена необходим для инициации мейоза.

В геноме *S. pombe* есть ген *ras*. Он является гомологом протоонкогена *ras* млекопитающих. Мутантный ген *ras1* не препятствует клеткам дрожжей расти и делиться путём митоза так же, как делятся клетки дикого типа. Однако делеционный аллель *ras1Δ* делает клетки более мелкими и даже округлыми. Если это гаплоидные клетки, то они не способны спариваться (скрещиваться), а когда путём слияния удалось сконструировать диплоидные клетки *ras1Δ / ras1Δ*, то они спорулировали

очень неэффективно. Оказалось, что клетки, несущие *ras1Δ*, могут секретировать феромоны, но сами не могут отвечать на действие феромонов и поэтому не спариваются. Эти и другие, более сложные, эксперименты привели к гипотезе о том, что ген *ras1* ответственен за восприимчивость *S. pombe* к феромонам, дающим сигнал для спаривания (Hughes, Yamamoto, 1993). Оказалось также, что ген *ras1* аллелен гену стерильности *ste5* (Lund et al., 1987, цит. по Yamamoto, 2004)

**Инициация мейоза.** Переключение с цикла митоза на цикл мейоза у *S. pombe* регулируется двумя факторами. Один из них — это индукция экспрессии гена *mei2*. Этот ген кодирует белок Mei2, который способствует премейотическому синтезу ДНК. Другой фактор — это инактивация белка Pat1, фосфокиназы, которая, если её не инактивировать, фосфорилирует белок Mei2, что приводит к его инактивации и недопущению премейотического синтеза ДНК. Оба эти явления — экспрессия *mei2* (синтез Mei2) и инактивация Pat1 — обусловлены голоданием клеток в безазотной и безуглеродной среде. Вот как это происходит. Экспрессия *mei2* прямо регулируется белком Ste11 (см. выше), а инактивация киназы Pat1 происходит в значительной степени косвенными путями.

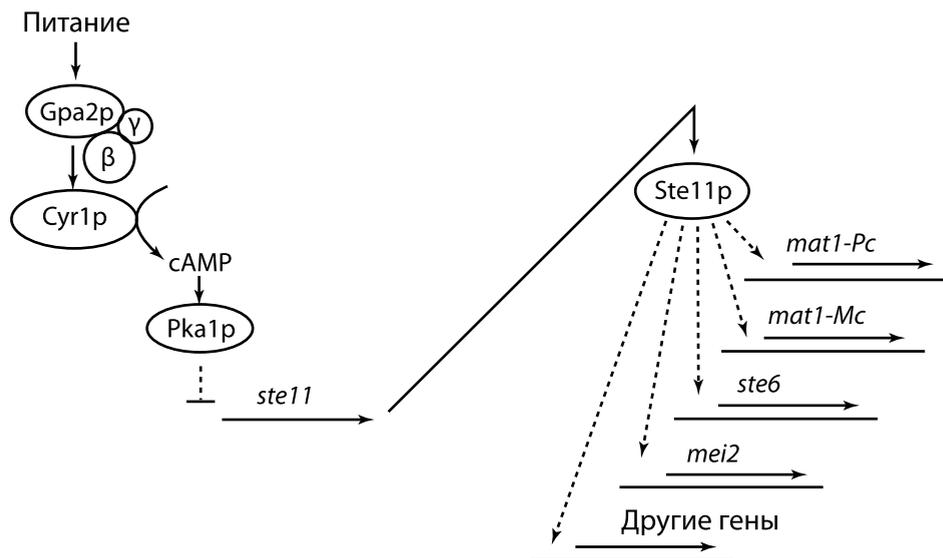
Дело в том, что диплоидные клетки (зиготы) *S. pombe*, находящиеся в голодной среде, сохраняют метаболический путь, при котором «работают» феромоны скрещивания клеток. Эти феромоны дают сигнал для экспрессии генов *mat1-Pi* и *mat1-Mi*. Совместная экспрессия этих генов приводит к экспрессии гена *mei3*. Продукт этого гена связывается с киназой Pat1 и инактивирует её. Тогда освобожденный от ингибирующего влияния белок Mei2р делает свое дело — способствует премейотическому синтезу ДНК, и вступление в мейоз уже нельзя предотвратить (Yamanoto et al., 1997).

Таким образом, как только диплоидная зигота образовалась, она готова к вступлению в мейоз. Её сдерживает только одно ограничение — богатая питательная среда, а точнее, присутствие в клетках активной формы киназы Pat1.

Белок Mei2 является белковой компонентой рибонуклеопротеина. Его функция необходима не только для инициации премейотического синтеза ДНК, но и для мейоза I. Молекула РНК, которая связывается с белком Mei2, состоит примерно из 500 нуклеотидов и получила название мейотической РНК (*meiRNA*). Клетки, лишённые этой РНК, останавливаются в развитии накануне мейоза I.

Во время вегетативного роста культур клеток *S. pombe* активно подавляется их способность к мейозу. Это достигается путем элиминации тех транскриптов, которые кодируются мейотическими генами. Замечательный механизм состоит в том, что эти транскрипты несут молекулярные мишени (*tags*) — так называемые детерминанты селективного удаления, DSR (*determinants of selective removal*), которые делают их восприимчивыми к белку Mmi1. Этот РНК-связывающий белок служит селективным элиминатором («убийцей») таких мРНК.

Система Mmi1 — ключевое звено, её инактивация — первый шаг на пути перехода от митоза к мейозу. Эта инактивация происходит в результате функционирования белка Mei2 (Harigaya et al., 2006). Голодная среда стимулирует экспрессию Mei2 (рис. 9.2 и 9.3), и этот белок каким-то образом налагает запрет на деятельность белка Mmi1 (секвестрирует его, как пишут авторы). После этого Mmi1 уже не может больше блокировать транскрипты мейотических генов.



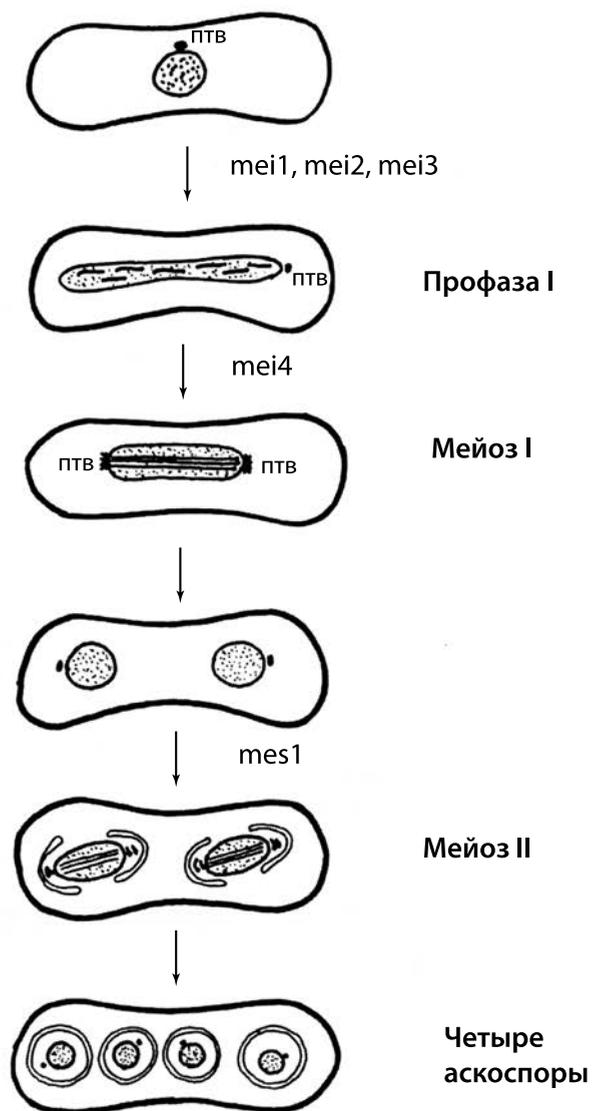
**Рис. 9.2.** Каскад генов, индуцирующих и запускающих мейоз у *S. pombe*.  
Объяснения — в тексте (по Yamamoto et al., 1997).

**Популярная аналогия.** Замок снят, ворота открываются, и белки-продукты мейотических генов начинают один за другим вступать в дело, как эскадроны кавалерии в атаку из открытых ворот крепости. Такая пост-транскрипционная регуляция по принципу принудительного «замалчивания» мейотических генов в вегетативных (соматических — у животных), то есть в немейотических, клетках имеет преимущество, поскольку она позволяет быстро выключить себя тогда, когда мейоз должен немедленно начаться (Harigaya, Yamamoto, 2007).

## Необычная профаза I мейоза. «Конский хвост»

Клеточное ядро зиготы *S. pombe*, вступившей в мейоз, необычным образом отличается от клеточного ядра в мейозе у почкующихся дрожжей. Уже в премейотической интерфазе, а затем в профазе I ядро *S. pombe* заполнено структурой, получившей название «конского хвоста» (Robinow, 1977). Это пучок волокон белковой природы, напоминающий под микроскопом расчёсанный лошадиный хвост. Хромосомы крепятся к этим волокнам.

Хромосомы в виде классических фибрилл хроматина (ДНК-нуклеосомная нить) прикреплены во многих местах к этим белковым нитям. Конский хвост совершает волнообразные движения, и вместе с ним движутся хромосомы. Видеосъёмка под микроскопом позволила зафиксировать эти движения, а комбинация методов FISH и иммуноцитохимии белков с помощью флуоресцентных антител помогла расшифровать картину событий (Chikasige et al., 1994; Svoboda et al.,



**Рис. 9.3.** Упрощенная схема генного контроля вступления в мейоз и продолжения мейоза у *S. pombe*.

Указаны символы генов. ПТВ — полярное тело веретена. Короткими черточками внутри ядра условно обозначены фрагменты линейных элементов хромосом (см. текст следующего раздела), длинными чертами — полные линейные элементы хромосом (по Shimoda et al., 1985 с изменениями).

1995). Кроме того, важные наблюдения и выводы были сделаны на основе электронной микроскопии (Lorenz et al., 2004; Loidl, 2006).

В профазе I мейоза у *S. pombe* нет субстадий от лептотены до диплотены, при- сущих классическому мейозу, вместо них вся профаза I мейоза называется стадией конского хвоста (horsetail).

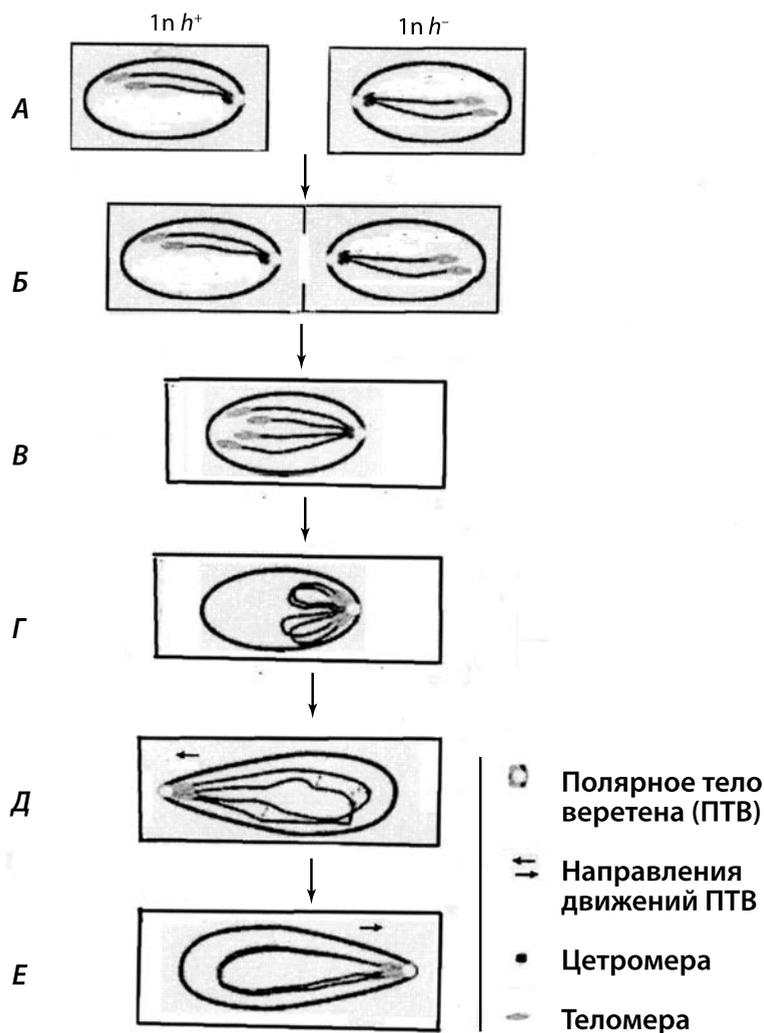
**Смена конфигурации Рабля на конфигурацию «конского хвоста», аналогичную конфигурации «букета».** В клетках *S. pombe*, делящихся путем митоза (будь то гаплоидные или диплоидные клетки), центромеры хромосом прикреплены к внутренней поверхности ядерной оболочки напротив полярных тел веретена (примы- кающих к ядерной оболочке снаружи). Это хромосомная конфигурация Рабля. Ин- дукция мейоза в зиготе вызывает реорганизацию клеточного ядра и ПТВ. Компо- ненты ПТВ, активные в митозе (Cut12, Pcp1, Spo15), покидают его в профазе I мейо- за и возвращаются после окончания мейоза I (Ohta et al., 2012). Ещё один компо- нент ПТВ — киназа Plo1 — также уходит из ПТВ, и это важно для правильного мейотического ремоделирования ПТВ. Искусственное введение Plo1 в ПТВ приво- дит к сверхдупликации полярных телец, мультиполярному делению и неправиль- ному расхождению хромосом.

Микротрубочки веретена выходят не из самого ПТВ, как думали ранее, а из электронно-плотного образования, расположенного на расстоянии 30–180 нм от ПТВ (Funaya et al., 2012, цит. по Dammermann et al., 2012). Оно было названо ради- альным центром организации микротрубочек (pЦОМТ). Образование pЦОМТ за- висит от ранее идентифицированного компонента ПТВ — Hrs1/Mcp6. Этот компо- нент формирует мост между ПТВ и минус-концами цитоплазматических микро- трубочек. Фосфорилирование и деградация Hrs1/Mcp6 способствует инактивации pЦОМТ в конце мейотической профазы и облегчает реорганизацию микротрубочек в биполярное веретено (Dammermann et al., 2012).

Теломеры гомологичных хромосом прикрепляются парами к внутренней по- верхности ядерной оболочки напротив полярного тела веретена, там же, где при- креплены центромеры. После этого центромеры освобождаются от контакта с обо- лочкой ядра, и возникает фигура букета хромосом. Полярное тело веретена (ПТВ) с помощью микротрубочек цитоплазмы многократно перемещается с одного по- люса клетки на другой, увлекая за собой верхушку ядра, и оно приобретает груше- видную форму. Хромосомы, ведомые перемещениями ПТВ, совершают ундулиру- ющие движения по длинной оси клетки. При этом длинные хромосомы, прикре- пленные за оба конца, совершают движения, напоминающие взмахи конского хво- ста. Тесный контакт и рекомбинация гомологичных хромосом происходят во время этих маховых движений «конского хвоста» (рис. 9.4 и 9.5).

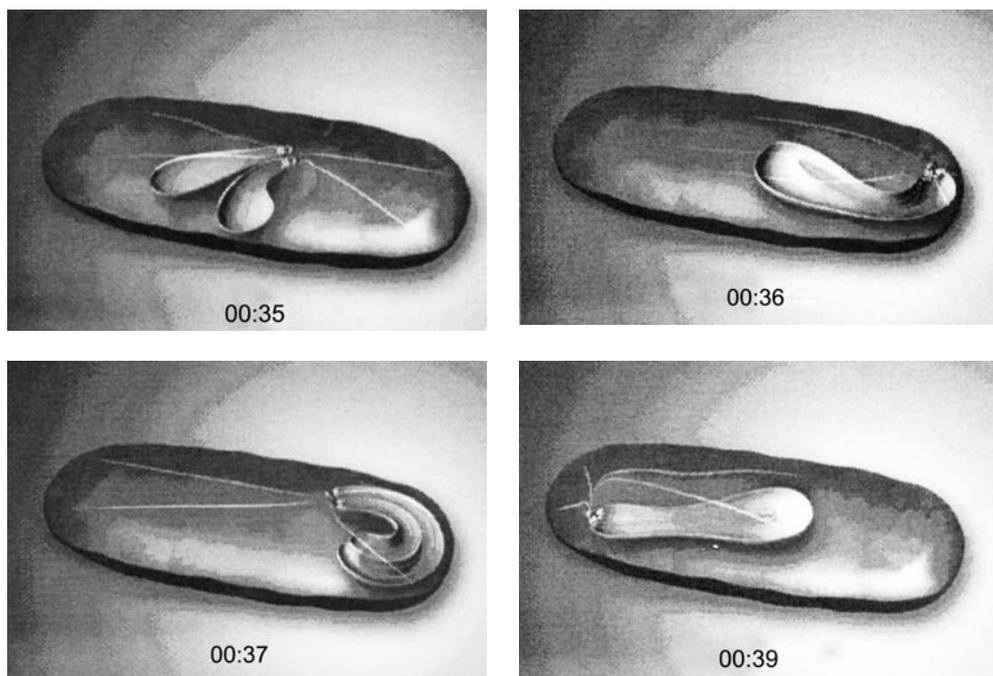
Эти явления аналогичны построению «букета» хромосом в ранней профазе I (на- пример, у *S. cerevisiae*). Однако они происходят в обратном порядке (Chikasige et al., 1997). Присоединение теломер к внутренней ядерной мембране вблизи SPB проис- ходит в гаплоидных ядрах в ответ на феромоны спаривания, а второй этап — отсо- единение центромер от ядерной мембраны — совершается после копуляции гапло- идных клеток.

В ядре на стадии «конского хвоста» теломеры всегда наблюдаются в виде едино- го кластера, в то время как центромеры сначала группируются в виде двух кластеров,



**Рис. 9.4.** Копуляция гаплоидных клеток и профза I мейоза у *S. pombe*.

А — гаплоидные клетки противоположных типов спаривания ( $h^+$  и  $h^-$ ); в ядрах клеток условно показано по одной двуплечей хромосоме, центромеры прикреплены к ядерной оболочке напротив полярных тел веретена. Б — копуляция клеток. В — слияние ядер (кариогамия). Г — теломеры тоже прикрепляются к ядерной оболочке. Д — центромеры теряют контакт с ядерной оболочкой, и возникает фигура, аналогичная «букету» хромосом; полярное тело веретена начинает осциллирующие движения между полюсами клетки, увлекая хромосомы, подобно махам конского хвоста. Е — гомологичные хромосомы тесно контактируют в результате маховых движений «конского хвоста» (по Wells et al., 2006 с изменениями).



**Рис. 9.5.** Кадры из анимационного фильма “Another way to move chromosomes” о мейозе у дрожжей *S. pombe*, показывающие движение «конского хвоста». (Интернет, 2013 г., анонимный автор).

Цифры — секунды после начала перестройки «фигуры Рабля» в «букет хромосом».

а позднее собираются в единый кластер. Это свидетельствует о том, что спаривание гомологичных хромосом начинается с теломерных концов и распространяется по направлению к центромерам. Спаривание и синапсис обеспечиваются волнообразными (ундулирующими) движениями конского хвоста. Они происходят благодаря осциллирующим перемещениям ПТВ, которые «полощут» по клетке ядро и весь пучок белковых нитей вместе с прикрепленными к ним хромосомами. Хромосомы вытягиваются вдоль нитей конского хвоста и протягиваются от одного края ядра до другого во время этих «полосканий». Очевидно, что в это время гомологичные хромосомы могут контактировать бок о бок, даже если не вступают в длительный синапсис.

Конский хвост движется благодаря молекулам белка динеина, перемещающегося вдоль микротрубочек и соединённого через ядерную оболочку с теломерами при помощи белков комплекса SUN-KASH (Loidl, 2006). Исследователи (Dammermann et al., 2012) проводят параллель между открытым недавно радиальным центром организации микротрубочек и перичентриольным материалом, окружающим центриоли в centrosомах животных. Обе структуры связывают ядро с цитоскелетом микротрубочек. Кроме того, в обоих случаях участвуют белки с доменами SUN-KASH: они пронизывают ядерную оболочку и участвуют в движении мейотиче-

ских хромосом и миграции ядра у таких далёких видов, как дрожжи, *Dictyostelium*, *C. elegans*, дрозофила и позвоночные. Моторный белок динеин и связанные с ним белки (возможно, Hrs1/Mcp6 дрожжей является их ортологом) также консервативны. Подробнее о комплексе SUN-KASH см. гл. 10 (рис. 10.2).

## Ультраструктура клеточных ядер в профазе I

*У S. pombe нет синаптонемных комплексов.* Профаза I мейоза изучена под электронным микроскопом не менее чем у тысячи биологических видов организмов из всех царств живой природы, и лишь у единиц видов (достоверно — у трех) синаптонемные комплексы (СК) не обнаружены. Дрожжи *S. pombe* относятся к числу этих «исключительных» организмов. Вместо СК у них на препаратах, приготовленных для электронной микроскопии, наблюдается 25–30 субмикроскопических волокон, так называемых линейных элементов (linear elements). Для наблюдения под электронным микроскопом их обычно окрашивают азотнокислым серебром (Olson et al., 1978; Bahler et al., 1993). Благодаря контрастированию этой солью серебра, они выглядят электронно-плотными. Именно они и образуют пучок нитей «конского хвоста» (Loidl, 2006).

Линейные элементы появляются в виде коротких нитей после завершения премейотического синтеза ДНК. Затем они удлиняются, укладываются параллельно, а потом (в конце стадии конского хвоста) — дезинтегрируются и исчезают. После этого полярное тело веретена удваивается, а его дочерние тела, «скользя» по наружной стороне ядерной оболочки, расходятся и располагаются диаметрально противоположно на двух сторонах клеточного ядра. Между ними в кариоплазме формируется веретено первого клеточного деления мейоза. Полярные тела оказываются на его полюсах.

Линейные элементы — примитивные предшественники синаптонемных комплексов. Петли хроматина прикрепляются к линейным элементам, поэтому последнее принято считать аналогами осевых элементов хромосом классического мейоза. Линейные элементы короче хромосом, и их число превышает в 4–5 раз число хромосом ( $2n=6$ ). Они располагаются как пунктир, образуя прерывистую пунктирную ось хромосом. Они нужны для конденсации и линейной организации фибрилл хроматина — молекул ДНК с сопутствующими белками. Линейные элементы соединяют сестринские хроматиды (Molnar et al., 1995). Именно прерывистые (как пунктир) белковые оси хромосом образуют пучки волокон «конского хвоста». Кратковременный синапсис гомологичных хромосом происходит, как сказано выше, в ходе волнообразных движений параллельно уложенных пунктирных линейных элементов — нитей «конского хвоста».

Синапсис гомологичных хромосом, мейотическая рекомбинация и последующее редукционное расхождение хромосом у *S. pombe* происходят без предварительного формирования СК (Kohli, Bahler, 1994; Scherthan et al., 1994). Исследователи утверждают, что между гомологами образуются хиазмы. Это умозаключение (ибо у *S. pombe* никто хиазм не видел) сделано на основе того, что во всех группах сцепления генов у этих дрожжей достоверно зарегистрированы множественные кроссоверы, а, во-вторых, для мейоза без СК есть аналогии среди некоторых мутантов *S. cerevisiae*.

В главе о классическом мейозе (гл. 3) сообщалось, что мутанты *zip1* дрожжей *S. cerevisiae* формируют осевые элементы хромосом, но не способны формировать СК, так как у них не синтезируется белок поперечных филаментов СК. Тем не менее, у этих мутантов происходит рекомбинация с частотой, составляющей единицы процентов от нормальной частоты в диком типе, и наблюдается сегрегация гомологичных хромосом, но процент жизнеспособных спор низкий. Однако у этих мутантов отсутствует интерференция кроссинговера. **У *S. pombe* интерференция рекомбинации тоже отсутствует. Это — важный признак мейоза, происходящего без СК.**

Система мейоза, аналогичная *S. pombe*, обнаружена у низшего гриба *Aspergillus nidulans*. У этого гриба отсутствует СК, и нет интерференции кроссинговера (Egel-Mitani et al., 1982). К сожалению, после этой первой работы мейоз у этого гриба почти не подвергался более детальному исследованию. У *Tetrahymena* также нет СК и белков, входящих в его структуру (по крайней мере, белков, родственных известным белкам). Внутри профазного ядра у этих организмов обнаружены структуры, напоминающие линейные элементы дрожжей *S. pombe* (Loidl, 2016). Вопрос о роли СК в интерференции кроссинговера обсуждается нами в главе 4.

## Молекулярная организация и ультраструктура линейных элементов

Найдены три белка, входящие в состав линейных элементов. Эти белки родственны белкам осевых элементов мейотических хромосом у почкующихся дрожжей *S. cerevisiae*. Основным структурным белком линейных элементов является белок Rec10. Без него линейные элементы не формируются. При этом у мутантов, у которых отсутствуют два других белка, Hop1 и Mek1, линейные элементы формируются и выглядят (под электронным микроскопом) почти как у дрожжей дикого типа (Loidl et al., 1994 b).

Rec10 по своей конформации и частично по последовательности аминокислотных остатков похож на белок осевых элементов Red1 *S. cerevisiae* (Smith, Roeder, 1997). Он имеет богатую лизинном область с предсказанным локусом прицельного связывания с клеточным ядром (nuclear targeting signal). Эта часть белковой молекулы способна электростатически взаимодействовать с ДНК. Кроме того, в белке есть альфа-спиральная область на С-конце (Lorenz et al., 2004). Топология иммунофлуоресцентных сигналов этого белка в ядре соответствует морфологии линейных элементов, следовательно, они располагаются по оси этих элементов.

Локализация белка Hop1 зависит от предварительного присутствия Rec10, и треки его иммунофлуоресцентных сигналов видны на линейных элементах в виде пунктира. Белок отдаленно родственен белку Hop1 *S. cerevisiae* (Hollingworth et al., 1990) и белкам-ортологам у *C. elegans* (HIM-3) и *Arabidopsis thaliana* (ASY1 и ASY2).. Главное в этом сходстве заключается в том, что все белки у этих организмов, родственные Hop1, несут на N-конце полипептидной цепи домен NORMA и центральный пролил-гидроксилазный домен (Lorenz et al., 2004).

Так же, как на осевых элементах у *S. cerevisiae*, на линейных элементах у дрожжей *S. pombe* располагаются молекулы мейоз-специфичной фосфокиназы Mek1.

Этот фермент не является «строительным» (структурным) компонентом этих линейных элементов и локализуется на них пятнисто (Bailis, Roeder, 1998).

У почкующихся дрожжей мейоз-специфичные гены *red1*, *mek1*, *hop1* являются эпистатической группой, то есть они функционируют именно в таком порядке, и мутация в первом гене подавляет проявление второго и третьего генов, а мутация во втором подавляет проявление третьего гена этого ряда. В отношении *S. pombe* ещё предстоит проверить, существует ли такая же зависимость, т.е. эпистатическое взаимодействие генов *rec10*, *mek1* и *hop1*, но уже выявлено определенное различие. Делеция гена *rec10* у *S. pombe* полностью подавляет рекомбинацию, в то время как при делеции генов *hop1* и *mek1* эффект супрессии рекомбинации умеренный (Loidl, 2006)

Существуют различия между местоположением в профазной хромосоме и, может быть, функцией мейотических когезинов у *S. cerevisiae* и *S. pombe*. У первых периодически расположенные когезиновые кольца служат основой, на которой формируются осевые элементы во время стадии лептотены, и мейотический когезин Rec8 обнаруживается иммуноцитохимически в виде непрерывных нитей в составе этих элементов. У *S. pombe* фокусы антител к Rec8 в составе линейных элементов прерывисты (как и сами линейные элементы) и часто лежат вне этих структур. Это интерпретируется так: значительная часть ДНК хромосом лежит вне линейных элементов в виде «латеральных петель», в которых Rec8 располагается между сестринскими хроматидами и не входит в структуру прерывистых линейных элементов. При этом нити фокусов антител к Rec8, в основном, не совпадают с линиями фокусов антител к Rec10 (Tanaka et al., 2001, цит. по Yamamoto, 2004; Wang et al., 2002, цит. по Yamamoto, 2004; Loidl, 2006).

**Динамика преобразований линейных элементов в ходе мейоза.** Впервые линейные элементы были обнаружены на ультратонких срезах клеток, но их полная морфологическая структура была описана на основе тотальных препаратов клеток, распластанных на стеклах после гипотонического шока. На таких препаратах линейные элементы выглядели весьма гетерогенными: как серии точек, короткие нити и их пучки, более длинные нити. Число длинных нитей обычно превышало  $2n$ . Как и следовало ожидать, оказалось, что разные морфологические картины соответствуют разным стадиям формирования линейных элементов (Bähler et al., 1993; Lorenz et al., 2004).

На стадии ранней профазы I видны серии точек — фокусов свечения флуоресцентных антител к белку Rec10. Затем, по мере развития профазы, они сливаются в нити, которые, если их контрастировать тяжелыми металлами, уже видны в электронном микроскопе. Число этих нитей превышает число хромосом ( $2n=6$ ). Затем нити начинают локально спариваться и меняться «партнерами». В результате образуется **сеть** электронно-плотных нитей, которые также окрашиваются флуоресцентными антителами к белку Rec10. Ещё позже эта сеть распадается на индивидуальные нити, также содержащие Rec10, и они сливаются в пучки. Каждый пучок выглядит как индивидуальная утолщенная нитевидная структура. Наконец, нити начинают укорачиваться и деградируют.

Линейные элементы наблюдаются с 5-го по 8-й час пребывания клеток в споруляционной среде (Yamamoto, Hiraoka, 2001). К началу этого периода премейотический синтез ДНК уже закончен и, согласно результатам наблюдения отдельных локусов хромосом методом FISH, синапсис гомологов происходит в интервале времени со 2-го по 6-й час пребывания

клеток в споруляционной среде (Scherthan et al., 1994). Таким образом, время жизни линейных элементов и временной интервал, когда наблюдаются сигналы спаривания гомологичных локусов, более или менее удовлетворительно совпадают, и это позволяет считать, что линейные элементы участвуют в спаривании, вернее — в локальном синапсисе гомологов. Появление белка рекомбинации Rec7, участвующего в формировании двунитевых разрывов ДНК, и белка Rad51 совпадает с максимумом развития длинных линейных элементов, содержащих Rec10, и сети нитей. И всё это происходит во время стадии активного «конского хвоста» (Lorenz et al., 2006).

**Важные условия для формирования линейных элементов.** Для полноценного развития линейных элементов необходимо присутствие мейотического когезина Rec8. У мутантов с полной делецией гена *rec8* наблюдаются только короткие линейные элементы. Но и для их формирования нужен митотический паралог белка Rec8 — когезин Rad21, который не вытесняется мейотическим когезином, а присутствует в мейотическом ядре вместе с ним.

**Формирование линейных элементов не зависит от спаривания хромосом или его отсутствия у мутантов.** Оно не зависит и от генов, которые вовлечены в формирование DSBs. У *S. pombe* это гены *rec7*, *rec12*, *rec14*, *meu13*, *mde2*. Однако, если некоторые из этих генов мутантны, то частота встречаемости в клетках разных конфигураций линейных элементов (и, соответственно, прохождение стадий их развития) оказывается измененной. Это означает, что существует обратная связь от процесса рекомбинации к процессу формирования линейных элементов.

**Связь линейных элементов с хромосомами. Их прерывистость.** Цитологическая картина профазы I мейоза у *S. pombe* сложна для исследования. Сложно сопоставить картину организации хроматина с расположением странных линейных элементов. Однако одно из важных доказательств их связи с хромосомами состоит в том, что суммарная длина линейных элементов у диплоидного штамма этих дрожжей составляет около 34 мкм, а у гаплоидного штамма — 55% от этой длины. Одно из первых следствий этого сравнения состоит в том, что линейные элементы связаны с одиночными хромосомами, а не с бивалентами хромосом, и не могут считаться, например, эквивалентами центральных элементов СК. Во время стадии «конского хвоста» линейные элементы ориентированы вдоль его оси, и это соответствует ориентации хромосом в этом ядре: от теломер, ориентированных на полюс, к дистально расположенным центромерам (Chikashige et al., 1997). Еще более строгим доказательством физической связи линейных элементов с хромосомами является обнаружение латеральных петель хроматина, контактирующих с линейными элементами (Vähler et al., 1993). Линейные элементы не покрывают всей длины вытянутых в профазном ядре хромосом и поэтому видны в виде фрагментов осей хромосом, и естественно, что число этих фрагментов превышает число хромосом. При этом когезиновые оси хромосом прослеживаются в промежутках между фрагментами линейных элементов, соединяя их как бы в единую хромосомную ось. Неясно, закреплено ли расположение линейных элементов за определенными участками линейной структуры хромосом.

Линейные элементы формируются независимо от двунитевых разрывов ДНК и экспрессии ранних генов рекомбинации, и короткие фрагменты линейных элементов образуются до спаривания, зависящего от рекомбинации. Таким образом, все доступ-

ные доказательства свидетельствуют, что формирование линейных элементов не зависит от спаривания хромосом. **Спаривание и синапсис хромосом зависят от того, что линейные элементы уже сформировались. Напоминаем также, что при отсутствии (у мутантов) линейных элементов рекомбинация отсутствует.**

*Ассоциация линейных элементов в сеть и пучки и связь со спариванием гомологичных хромосом.* У организмов с классическим СК точное сопоставление концов хромосом и полокусное выравнивание пар осевых элементов (которые превращаются в латеральные элементы СК) означает тесное спаривание (синапсис) хромосом. Линейные элементы никогда так не организуются. Иногда линейные элементы локально спариваются на коротком протяжении, но чаще несколько линейных элементов организуется в виде сети или пучков, и это отражает группирование (кластрирование) локусов хромосом, контактирующих с локусами, несущими линейные элементы. Но ни в одной из этих конфигураций нет ясно видимого попарного соединения линейных элементов. Поэтому можно задаться вопросом: действительно ли контакт линейных элементов означает спаривание хромосом?

Из наблюдения взаимоотношений между поведением линейных элементов и рекомбинацией кажется вероятным, что из двух спаривающихся хромосом, по крайней мере, одна должна обладать линейным элементом в сайте спаривания и рекомбинации, и этот элемент сопровождает спаривание в данном локусе (Loidl, 2006). Поскольку у *S. pombe* нет типичной стадии пахитены, когда хромосомы соединены попарно, то возможно, что попарный синапсис происходит асинхронно в трех парах хромосом. Если предположить, что синапсис хромосом осуществляется без участия линейных элементов, тогда неясно, для чего они вступают в ассоциации — сети и пучки? Возможным объяснением образования сети и пучков линейных элементов может быть их соединение после синапсиса (спаривания) хромосом, когда линейные элементы отсоединяются от хромосом и становятся ненужными. Тогда сети и пучки — аналоги агрегатов СК (поликомплексов), формирующихся на стадии диплотены классического мейоза (Goldstein, 1987).

Наконец, не исключено, что сети и пучки (которые никогда не наблюдались под ЭМ) являются артефактом, возникающим при спредировании клеток. Появление их происходит регулярно в одно и то же время в ходе мейоза в диком типе, но их количество варьирует у мутантов (Molnar et al., 2003), и если это не связано с синапсисом, то, по крайней мере, отражает изменение свойств линейных элементов — появление у них свойства повышенной адгезивности. **Предположения о постсинаптическом и об артефактном происхождении пучков и сетей линейных элементов внутри «конского хвоста» не исключают одно другого. Возможны оба явления одновременно.**

## Функция линейных элементов, их роль в рекомбинации

Линейные элементы необходимы для рекомбинации. У тех мутантов, которые лишены белка Rec10 — основного структурного белка линейных элементов — нет рекомбинации. Установлено, что линейные элементы несут на себе фокусы антител к белку рекомбинации rec7 (гомологу белка Rec114 *S. cerevisiae*) (Molnar et al., 2001; Lorenz et al., 2006). Линейные элементы формируются независимо от способности или неспособности того или иного штамма к рекомбинации. Они образуются, например, даже у делеционных мутантов *rec12Δ* (этот ген — гомолог гена *spo11*

*S. cerevisiae*), но двунитевых разрывов ДНК в мейозе в отсутствие этого гена (Loidl, 2006). То есть сначала образуются линейные элементы, а затем на них появляются белки рекомбинации. Особенно важно следующее: было установлено, что большая часть молекул рекомбинационного белка Rad51 локализуется в ходе профазы I мейоза на линейных элементах. Когда в ядрах мейотических клеток (у мутантов) нет белка Rec10 (и, соответственно, отсутствуют линейные элементы), то и белки Rec7 и Rad51 не появляются (Lorenz et al., 2006).

Rec7 появляется на линейных элементах, когда они еще короткие, а Rad51 — на стадии, когда наблюдается сеть из этих элементов и они достигают максимальной длины. Таким образом, двунитевые разрывы ДНК возникают на ранней стадии формирования линейных элементов, а промежуточные структуры рекомбинации — соединения Холлидея — во время стадии максимального развития линейных элементов.

**В результате этих наблюдений было сделано заключение, что формирование линейных элементов дает сигнал к рекрутированию и локализации на них комплекса ферментов рекомбинации** (Lorenz et al., 2006). В этом отношении белок Rec10 *S. pombe* аналогичен по влиянию на рекомбинацию белку Red1 *S. cerevisiae*, но отличается от него тем, что если у делеционных мутантов *red1Δ* небольшой уровень рекомбинации сохраняется, то у мутантов *rec10Δ S. pombe* рекомбинация отсутствует полностью. И всё же белок Rec10 имеет двойную функцию: структурную (формирование линейных элементов) и «оперативную» (рекрутирование белков рекомбинации). Дело в том, что у недеletionных, «не нулевых» мутантов по этому белку, имеющих дефектный белок, небольшой уровень рекомбинации существует.

**Возможное участие линейных элементов в супрессии рекомбинации сестринских хроматид.** Сестринская хроматида — самая пространственно близкая и удобная матрица для репарации двунитевых разрывов ДНК. При этом репарация разрыва ДНК на основе близлежащей матрицы и, следовательно, рекомбинация сестринских хроматид (сестринские хроматидные обмены) бесполезны для целей мейоза, ибо не приводят к формированию хиазм. Но даже локальное (точечное) появление фокусов белка Rec10 уже инициирует появление двунитевых разрывов. А в чем состоит необходимость удлинения нитей белка Rec10 и появления линейных элементов?

Установлено, что у *S. cerevisiae* барьер против рекомбинации сестринских хроматид создается в результате кооперации трех белков — Hop1, Red1 и Mek1, — входящих в состав осевых элементов хромосом. У *S. pombe* возможен близкий механизм супрессии такой рекомбинации. Некоторые данные в пользу этого уже есть. У мутантов *hop1Δ* частота межсестринской рекомбинации повышена по сравнению с диким типом. Поэтому логично задать вопрос: не является ли формирование длинных линейных элементов и их сети созданием условий для подавления рекомбинации сестринских хроматид? Фокусы белка Hop1 выстраиваются в линию только тогда, когда белок Rec10 формирует длинные линейные элементы, и белок Hop1 располагается вдоль этих элементов. Это и может создавать непрерывный барьер для межсестринской рекомбинации.

**Рекомбинация, зависящая от сформированных линейных элементов, может облегчать спаривание хромосом.** Формирование линейных элементов косвенным образом влияет на спаривание хромосом. Мутация *rec10*, повреждающая основной белок этих элемен-

тов, снижает уровень спаривания. Это доказывается путём окраски гомологичных локусов, меченных флуоресцирующим белком. Ранее мы обсуждали функцию линейных элементов и пришли к выводу, что они обеспечивают начало рекомбинации и интерференцию ее событий вдоль хромосомы. Инициация рекомбинации стабилизирует начальное спаривание гомологичных локусов.

*Еще одна функция линейных элементов — стабилизация спаривания хромосом.* Несмотря на несомненное участие линейных элементов в инициации рекомбинации и в спаривании хромосом, зависящем от рекомбинации, не исключается возможность существования спаривания, не зависящего от рекомбинации. Вполне разумно считать, что если у *S. pombe* взаимодействующие молекулы ДНК нуждаются в физической поддержке с помощью белковых соединений в местах кроссинговера или вблизи этих мест, то один или два линейных элемента, связанные с хромосомами вблизи точки рекомбинации, физически помогают рекомбинации, стабилизируя чувствительную к механическим повреждениям конструкцию соединений Холлидея.

*Связано ли отсутствие интерференции кроссинговера у *S. pombe* с отсутствием СК?* Этот вопрос изучен Лойдлом (Loidl, 2006). Совпадение двух явлений — отсутствие СК и отсутствие интерференции кроссинговера у *S. pombe*, а также у *Aspergillus* и *Tetrahymena*, — долгое время считалось аргументом в пользу того, что СК необходим для интерференции. Но появились сообщения, что у разных организмов интерференция поддерживается даже тогда, когда СК отсутствует или сформирован не полностью, и что интерференция между определенными кроссоверами осуществляется даже до того, как СК сформировался (Page, Hawley, 2004; Borner et al., 2004; Loidl, Scherthan, 2004). Эти сообщения опровергли прямую связь между присутствием СК и интерференцией и тезис о необходимости СК для осуществления интерференции. Вместо этого появилось предположение, что для осуществления интерференции необходимо сохранение целостности и непрерывности осевых элементов (при классическом мейозе, имеющем СК). В свете этой гипотезы предполагается, что у *S. pombe* интерференция отсутствует потому, что линейные элементы хромосом у этого организма прерывисты, и кроссинговер, произошедший в каком-то локусе, не может предотвратить появление кроссинговера в другом локусе той же хромосомы, если между локусами нет физической связи в виде непрерывного линейного элемента.

К концу первого десятилетия XXI века изучение линейных элементов находилось на начальной стадии. Приведенные выше факты вызывают новые вопросы. **Беспорен только факт участия линейных элементов в инициации рекомбинации путем «нуклеации» на них или вблизи них двунитевых разрывов ДНК.** В этом отношении линейные элементы *S. pombe* (LinEs) напоминают осевые элементы (AEs/LEs) хромосом тех эукариот, у которых в мейозе есть синаптонемные комплексы. Они служат «якорными» структурами для локализации на них ферментов рекомбинации. Эти ферменты способствуют соединению гомологичных хромосом путем рекомбинации.

Функция линейных элементов у *S. pombe* может быть большей, чем у осевых элементов *S. cerevisiae*, они могут выполнять и роль СК, то есть соединять гомологичные хромосомы.

## Глава 10.

# Мейоз у нематоды *Caenorhabditis elegans* — модель для изучения связи синапсиса хромосом и кроссинговера

Нематода *C. elegans* — классический объект биологии развития и генетики — удобна для изучения молекулярных процессов, лежащих в основе мейоза. Синхронно развивающиеся мейоциты расположены в гонадах *C. elegans* в порядке линейного градиента стадий мейоза. Синапсис гомологичных хромосом начинается до инициации их рекомбинации. Формирование синаптонемных комплексов (СК) начинается со спаривания гомологов с помощью уникальных белковых центров спаривания, имеющих в каждой хромосоме. Только после этого с помощью эндонуклеазы SPO-11 происходят программируемые двунитевые разрывы ДНК, дающие старт рекомбинации. Это отличает мейоз *C. elegans* от канонического мейоза у большинства эукариот, при котором синапсис гомологов начинается с двунитевых разрывов ДНК и инвазии 3'-конца одонитевой ДНК в гомологичную хромосому, что индуцирует образование СК. Полицентрические хромосомы *C. elegans* подвергаются ремоделированию в конце профазы I мейоза. На одном из концов каждой хромосомы образуются колпачки кинетохоров, и хромосомы ведут себя в двух делениях мейоза как моноцентрические. Исследование мейоза у *C. elegans* позволяет разделить процессы синапсиса и рекомбинации гомологичных хромосом и даёт материал для изучения эволюции мейоза.

Круглые черви стали важными объектами для исследования цитологических и молекулярных явлений мейоза (Bogdanov, 1977; Kundu, Bogdanov, 1979; Goldstein, 1982). Среди них нематода *C. elegans* оказалась наиболее удобной и превратилась в интенсивно используемый модельный объект для изучения общих закономерностей мейоза, особенно для исследования молекулярных механизмов кроссинговера и его связи с мейотическим синапсисом хромосом (Barnes et al., 1995; Dernburg et al., 1998; Garcia-Muse, Boulton, 2007; Phillips et al., 2009; Lui, Colaiacovo, 2013; Rog, Dernburg, 2013; Woglar, Jantsch, 2014). Одновременно эти исследования дали материал для развития гипотез о возможных исторических путях возникновения и эволюции мейоза.

## *C. elegans* как объект для изучения мейоза

Нематоды *C. elegans* не имеют самок, их место заняли гермафродитные особи с формулой хромосом  $XX+10A$  (где  $A$  — аутосомы), но существуют и самцы ( $X+10A$ ). В парных нитевидных трубочках-гонадах у гермафродитов, а также в одиночной трубочке-гонаде у самцов созревающие гоноциты первого порядка (первичные ооциты) и неотличимые от них первичные сперматоциты) расположены в ли-

нейном порядке, в строгой очерёдности их созревания и прохождения стадий мейоза. Созревая, они продвигаются от проксимального конца трубочки-гонады к дистальному концу. Там зрелые продукты мейоза выходят из гонады (рис. 10.1).

Яйцеклетки гермафродитов претерпевают самооплодотворение и дают новое потомство гермафродитов с очень малым числом самцов — 0,2% (Hodgkin et al., 1979). Появление самцов можно отнести за счёт случайного нерасхождения X-хромосом, когда, помимо нормальных яйцеклеток X+5A, изредка появляются анеуплоидные яйцеклетки XX+5A и 0+5A. Слияние яйцеклеток 0+5A с яйцеклетками X+5A приводит к появлению редких самцов X+10A.

Мутации, действие которых проявляется в профазе I мейоза, приводят к повышению частоты нерасхождения X-хромосом. При этом возникают случаи ареста мейоза или появляются анеуплоидные гаметы. То и другое обычно приводит к летальному исходу эмбрионов (эмбриональные летали, *Emb*). Но появление леталей также сопровождается появлением эмбрионов X0, дающих самцов с фенотипом Nim — «Повышенная встречаемость рождения самцов» (**H**igh incidence of **m**ales) (Hodgkin et al., 1979; Lui, Colaiacovo, 2013; Woglar, Jantsch, 2014).

В каждом поперечном сечении трубочки-гонады *C. elegans* содержатся абсолютно синхронно развивающиеся ооциты и сперматоциты. Это было впервые описано при исследовании других нематод — аскарид (Bogdanov, 1977; Goldstein, 1982), но маленькая нематода *C. elegans*, питающаяся бактериями, оказалась более удобной в лабораторной работе благодаря её лёгкому культивированию на чашках с агаром, засеянными бактериями *Escherichia coli*.

Длительность жизненного цикла *C. elegans* составляет 18–21 день. Малые размеры этой нематоды — лишь небольшая помеха в работе, ибо у гермафродитных особей клетки гонад (ооцитов I и II порядков) составляют половину всех клеток тела червя, и количество (масса) этих клеток достаточно для использования микрометодов биохимии и иммуноцитохимии. Дополнительное удобство — прозрачность тела



**Рис. 10.1.** Монтаж фрагментов микрофотографий гонады *C. elegans*.

Картина справедлива для яичника и семенника. На фрагменте «Диакинез» изображены шесть бивалентов одного клеточного ядра. Из Woglar, Jantsch, 2014.

этой маленькой нематоды. Это позволяет прицельно вырезать из тела разные отделы гонад, содержащие мейотические клетки, синхронно проходящие определенные стадии мейоза. Можно проводить как прицельное электронно-микроскопическое исследование фиксированных клеток, так и прижизненное наблюдение отдельных клеток и делать с ними трансгенные манипуляции, используя молекулярные конструкторы со светящимися белками и другие приёмы. Получены генерации червей с делециями и инсерциями одиночных генов (Zetka, Rose, 1995; Fridland et al., 2013), что можно использовать для решения разных цитогенетических задач.

Нематоды имеют полицентрические хромосомы, но способ расхождения этих хромосом в митозе и мейозе отличается от способа расхождения моноцентрических хромосом, присущих большинству эукариотических организмов. Он кратко описан в конце этого обзора, излагающего явления мейоза в их хронологическом порядке.

## Премейотические хромосомы

**Когезия сестринских хроматид.** После премейотической репликации ДНК сестринские хроматиды в хромосомах *C. elegans* удерживаются вместе с помощью охватывающих их белковых колец. Кольца образованы молекулами белков-когезинов. Когезиновое кольцо образовано спиральными молекулами двух когезинов: SMC1 (у *C. elegans* носит название HIM-1) и COH-4 (Severson et al., 2009; Lee, Hirano, 2011). Обращаем внимание, что в аббревиатуре названий генов и белков *C. elegans* используется чёрточка (дефис). Когезиновое кольцо замыкают клейсины. Судя по исследованию других организмов, клейсины нужны для «загрузки» когезинов в хромосомы. У *C. elegans* это REC-8 и SCC-2, ортологи белков REC8 и Scc2 других организмов), и MAU-2, ортолог белка Scc4 (Seitan et al., 2006; Lightfoot et al., 2011). По-видимому, для поддержания когезии в мейозе у *C. elegans* нужен также белок PDS-5/EVL-14. Его отсутствие приводит к разъединению сестринских хроматид в профазе I мейоза (Wang et al., 2003). Когезины связываются с белком осевых элементов хромосом — HTP-3 (Severson et al., 2009).

Клейсин REC-8 — ключевой белок для сохранения локальной когезии сестринских хроматид полицентрических хромосом *C. elegans* в метафазе I и анафазе I. Однако его потеря, например у мутантов, не полностью устраняет когезию хроматид. Она сохраняется благодаря сохранению клейсинов COH-3 и COH-4. У двойных мутантов *coh-3*, *coh-4* когезия нарушена в большей степени, чем у мутанта *rec-8*. Но в мейозе II из этих трех клейсинов поддерживает когезию только REC-8, остальные два белка во время мейоза II отсутствуют (Severson et al., 2009). Как известно, сохранение когезии сестринских хроматид в центромере хромосом в первом делении канонического мейоза — необходимое условие для отхождения обеих сестринских хроматид к одному полюсу и редукционного характера этого деления. Но у нематод хромосомы полицентрические. Каждая из них несет множественные центромерные локусы, для которых нужно много «клеющего» белка-клейсина. Поэтому мейоз-специфичные белки COH-3 и COH-4 являются, по-видимому, обязательными для поддержания когезии сестринских хроматид в мейозе I у *C. elegans*. **Можно предположить, что дозы одного эволюционно консервативного гена *Rec-8***

не хватает для обеспечения мейоз-специфичным склеивающим белком множественных центромерных локусов полицентрических хромосом *C. elegans*. Белки СОН-3 и СОН-4, вероятно, понадобились для увеличения дозы клейсинов и усиления или подстраховки когезии полицентрических хромосом в мейозе у этой нематоды.

## Лептотена и зиготена в «транзитной зоне» гонады

**Узнавание и спаривание гомологичных хромосом.** После обогащения мейоз-специфичными когезинами и клейсинами клетки зародышевого пути *C. elegans* проходят в гонаде зону вхождения в мейоз и становятся собственно мейоцитами. Клетки с еще неспаренными хромосомами на стадиях лептотены и зиготены занимают примерно 20 рядов вдоль гонады, и в каждом ряду они синхронны (Barnes et al., 1995; Crittenden et al., 2006). Под микроскопом на этих стадиях ещё невозможно различить лептотену и зиготену. Поэтому зона гонады, заполненная лептотенными и зиготенными клетками, называется «транзитной зоной», и мейоциты этих стадий иногда именуется клетками транзитной зоны.

Согласно опубликованным данным, клеточные ядра транзитной зоны находятся в сплошном цитоплазматическом синцитии (Lui, Colaiacovo, 2013), хотя у свиной аскариды сперматогонии — предшественники мейоцитов — имеют клеточные мембраны (Bogdanov, 1977; Богданов, 1978; Kundu, Bogdanov, 1979). У аскариды эти клетки имеют неправильную многоугольную форму и прочные клеточные контакты. Возможно, что термин «синцитий» используется некоторыми авторами для обозначения слишком прочного контакта ооцитов транзитной зоны, которые невозможно разъединить для экспериментальных целей. Поэтому, несмотря на упоминание о синцитиальном строении содержимого гонады в её транзитной зоне, мы будем в дальнейшем пользоваться привычным понятием о клетках на стадиях лептотены и зиготены. Но во время пахитены ооциты и сперматоциты *C. elegans* действительно становятся отдельными клетками.

В ядрах транзитной зоны гонад *C. elegans* хроматин смещен к одному краю ядра, образуя клубок, похожий на полусферы клубков хроматиновых нитей у других объектов (даже у кукурузы). В этой массе хроматина инициируется спаривание и синапсис хромосом, который стабилизируется путем формирования синаптонемных комплексов (Barnes et al., 1995).

В лептотенных и зиготенных клетках транзитной зоны мейоза у *C. elegans* нет «букета» хромосом, типичного для канонического мейоза. При каноническом мейозе хромосомы крепятся к ядерной оболочке обоими концами. Вместо этого в мейозе у *C. elegans* хромосомы контактируют с внутренней поверхностью ядерной оболочки только одним концом. На внутренней стороне ядерной оболочки есть места преимущественного прикрепления хромосом. Такая группировка (кластрирование) служит выполнению той же функции, что и в зиготенном «букете» канонического мейоза, а именно — сжатию пространства, в котором находятся концы хромосом. Это способствует выравниванию концов хромосом в этом пучке и облегчает поиск и встречу гомологичных локусов для начала их синапсиса.

Делеции и транслокации хромосом, локализованные близко к хромосомному концу, прикрепленному к ядерной оболочке, препятствуют правильному спариванию и кроссинговеру гомологичных хромосом (Lui, Colaiacovo, 2013). На основе этого был сделан вывод о том, что при взаимном поиске хромосомами гомологии для спаривания и синапсиса важна не только гомология в одном локусе, но также гомология на каком-то расстоянии от него (Villeneuve, 1994). По правилам генетики это явление обозначается как цис-эффект. Зоны хромосом, близкие к хромосомному концу, где происходит первичное спаривание хромосом *C. elegans*, названы «областями распознавания гомологии», или «центрами спаривания».

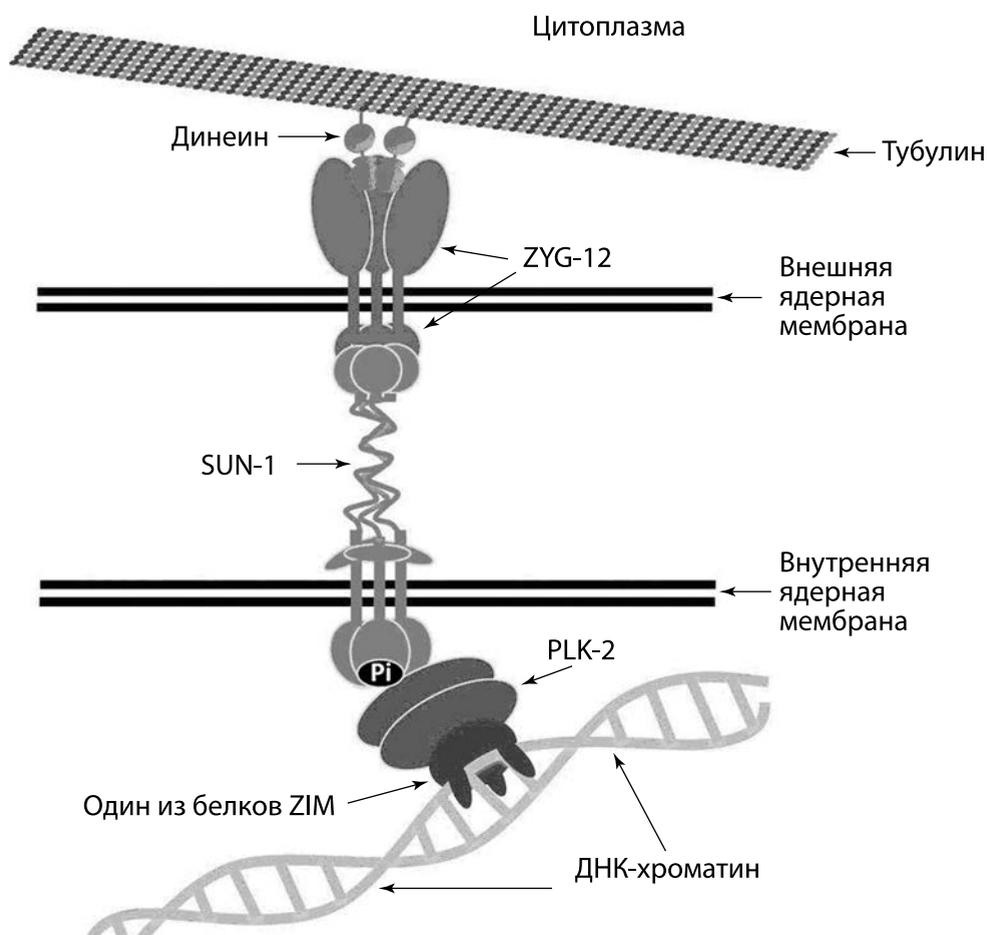
**Центры спаривания и синапсис хромосом.** По мере созревания клеток транзитной зоны (но еще в лептотене) появляются белковые оси хромосом. Выровненные оси гомологичных хромосом на ранних стадиях синапсиса располагаются на расстоянии около 100 нм (Smolikov et al., 2008), затем (в зиготене) появляются короткие фрагменты синаптонемных комплексов (СК). Но, как ни удивительно, взаимное узнавание и синапсис гомологичных хромосом начинаются в центрах спаривания независимо от построения СК из хромосомных осей. Сначала синапсис распространяется на некоторое расстояние от центра спаривания, и только после этого появляются короткие синаптонемные комплексы. СК лишь стабилизирует, закрепляет первоначальный синапсис. Затем построение СК распространяется на всю длину каждой пары хромосом (Rog, Dernburg, 2013). Центры спаривания локализованы в субтеломерных областях каждой хромосомы, по одному центру на хромосому (McKim et al., 1988).

**Молекулярный механизм контакта хромосом в центрах спаривания у *C. elegans*.** В центрах спаривания хромосом в мейозе у *C. elegans* локализуются четыре белка, содержащие  $C_2H_2$ -цинковые пальцы. Они необходимы для первоначального синапсиса хромосом. Это белки HIM-8, ZIM-1, ZIM-2 и ZIM-3, обозначаемые собирательно как ZIM-белки (аббревиатура ZIM возникла из слов *zink in meiosis*). Цинковые пальцы этих белков внедряются в двойную спираль высокоповторяющихся последовательностей ДНК, которые присутствуют в центрах спаривания хромосом (рис. 10.2). ZIM-1, ZIM-2 и ZIM-3 связываются с аутосомами, а HIM-8 — с X-хромосомой (Barnes et al., 1995; Phillips et al., 2005). Посадка этих белков на центры спаривания хромосом регулируется киназой CHK-2 — главным (ключевым) регулятором мейоза у *C. elegans* (MacQueen, Villeneuve, 2001; Phillips et al., 2005; Phillips, Dernburg, 2006). Эти события происходят во время прохождения клетками транзитной зоны гонады. При этом ранние явления рекомбинации — двойные разрывы ДНК, инвазия однокитевой ДНК и гибридные промежуточные продукты рекомбинации (структуры Холлидея) — в процессе синапсиса хромосом не участвуют, в отличие от организмов с каноническим мейозом.

Спаривание гомологичных хромосом начинается с их концов. В это время один конец каждого гомолога, а именно тот, который несет на себе центр спаривания (специфический «высокий» повтор нуклеотидов ДНК), контактирует с внутренней ядерной мембраной. Он каким-то образом притягивается к ядерной оболочке ядерным белком SUN-1. Для этого сначала у SUN-1 фосфорилируется серин-16. У гермафродитов, трансформированных конструктом, несущим ген *sun-1*, конъюгированный с геном белка зеленой флуоресценции (*sun-1::gfp transgene*), отчетли-

во окрашивается ядерная оболочка, и вместе с окраской DAPI это позволяет выявлять спаривание шести пар хромосом. При этом оказывается, что спаривание происходит независимо от появления двойных разрывов ДНК, а именно, до появления разрывов в местах спаривания хромосом (Rosenbluth, Baillie, 1981; Rose et al., 1984; McKim et al., 1988; Herman, Kari, 1989).

Хромосомный центр спаривания фиксируется в определенном месте на внутренней ядерной мембране благодаря тому, что белок SUN-1 образует трансмембранный комплекс с белком ZYG-12, сидящим на внешней ядерной мембране. Этот комплекс носит название SUN/KASH-комплекса. Он образует трансмембранный бел-



**Рис. 10.2.** Модель организации «центра спаривания» на мейотической хромосоме *C. elegans* и его прикрепления к ядерной мембране; указаны аббревиатуры названий белков. По: Woglar, Jantsch, 2014, с изменениями.

ковый «мост». Этот «мост» удерживает хромосомный конец с его центром спаривания на близком расстоянии от центра спаривания гомологичной хромосомы, и это создает условия для первичного контакта гомологичных хромосом. В чем состоят и как реализуются эти условия?

Контакт хромосом с ядерной мембраной служит условием для посадки ZIM-белков на центры спаривания. После этого ZIM-белки «рекрутируют» (привлекают к себе) polo-подобную киназу PLK-2. Эта киназа способна «сесть» на нужное место и фосфорилировать белок, только если белок ZIM уже находится в центре спаривания. Фосфорилирование с помощью PLK-2 создает условие для белок-белкового взаимодействия между белком ZIM и белком SUN-1 (рис. 10.2).

Трансмембранный комплекс белков SUN-1 и ZYG-12, он же SUN/KASH-комплекс, носит в некоторых публикациях название медиаторного комплекса движения (английская аббревиатура — MMC). Аббревиатуру MMC мы будем использовать в дальнейшем, как самую простую. Комплекс MMC существует в лептотенных и зиготенных клетках, но постепенно исчезает с наступлением стадии пахитены. Иными словами, происходят события, аналогичные распаду «букета» хромосом в каноническом мейозе, когда концы хромосом начинают мигрировать из основания букета и распределяются по всей поверхности внутренней ядерной мембраны.

В отличие от белков комплекса MMC аутосом, белок HIM-8, маркирующий X-хромосому, сохраняется на ядерной мембране на протяжении стадии пахитены, и это тоже напоминает особое поведение X-хромосомы, например, в мейозе у млекопитающих, когда у них обособляется «половой пузырек», или половое тельце.

Такие сопоставления изменений распределения хромосом в ядре во время профазы I у разных объектов и сравнение терминологии, которой пользуются авторы, изучающие мейоз у разных объектов, важны, ибо позволяют выполнять главную цель нашей книги — изучение консерватизма и изменчивости мейоза.

Комплекс MMC (SUN/KASH) формируется по какому-то сигналу из клеточного ядра, но этот сигнал *не зависит от двунитевых разрывов ДНК* и их «процессинга», приводящего к формированию ранних и промежуточных продуктов рекомбинации, и не зависит от синапсиса хромосом, но нуждается в серин/треонин протеин-киназе (или Checkpoint Kinase 2) CHK-2 (Penkner et al., 2009; Sato et al., 2009).

Важной особенностью поведения хромосом и их центров спаривания у *C. elegans* является их разная подвижность в ядре во время транзитного периода и даже в пахитене. С помощью микроскопической видеосъемки флуоресцентных фокусов белков было установлено, что высокой подвижностью обладают только те концы хромосом, которые несут на себе центры спаривания. Остальное «тело» хромосом остаётся неподвижным (Wynne et al., 2012). Концы хромосом с центрами спаривания активно движутся, скользят по внутренней ядерной мембране только одну минуту из примерно 60 мин пребывания ядер и хромосом в транзитном состоянии. Еще три минуты эти концы хромосом продолжают замедленное движение. За всё это время (1+3 мин) центры спаривания успевают (для выбора партнера спаривания) встретиться с центрами спаривания как гомологичных, так и негомологичных хромосом. Среднее расстояние, которое преодолевают концы хромосом по поверхности внутренней ядерной мембраны, составляет 0,5 мкм и доходит до максимального расстояния 2 мкм, а скорость движения – 0,19 мкм/сек (Wynne et al., 2012). По-

добные исследования важны для выявления молекулярного, вернее, биофизического механизма движения и узнавания хромосом. Им посвящены специальные исследования и обзорная публикация (Woglar, Jantsch, 2014).

Если с помощью мутации лишить мейоциты *C. elegans* способности экспрессировать один из генов комплекса ММС (например, при мутациях *sun-1*, *chk-2*, *plk-2* или одного из генов *ZIM*), то хромосомы теряют способность спариваться (Harper et al., 2011; Labella et al., 2011).

Как уже сказано, за исключением движения их концов, сами хромосомы остаются неподвижными во время транзитного периода. Но, в отличие от аутосом, концы X-хромосомы (несущие белок HIM-8) подвижны даже в ранней профазе. Если концы хромосом лишены способности к быстрым движениям, то синаптонемные комплексы рано или поздно формируются, но при этом наблюдается формирование СК между негомологами (Woglar, Jantsch, 2014).

Движение концов еще не спаренных хромосом продолжается в ходе формирования СК. Завершение построения СК приводит к синхронному прекращению движения концов всех хромосом. Из этих наблюдений был сделан вывод, что сигналы и стимулы к движению концов хромосом рождаются внутри клеточного ядра (Baudrimont et al., 2010; Wynne et al., 2012). Если синапсис хромосом заблокирован, то мейоциты оказываются «арестованными» на стадии транзита из лептотены в зиготену и подвергаются апоптозу. Подвижность хромосом в профазе I зависит от микротрубочек, и удаление из клетки белка динеина приводит к потере хромосомами способности спариваться (Sato et al., 2009).

Спаривание X-хромосом *C. elegans* выражено сильнее, чем спаривание аутосом. Ему не мешают даже те мутации мейотических генов, которые ослабляют или вообще предотвращают спаривание аутосом. При этом, например, у мутантов *cra-1* и даже гипоморфного мутанта *him-3* спаривание аутосом отсутствует, а спаривание X-хромосом сохраняется, но в ослабленном виде и с нарушениями кроссинговера (Couteau et al., 2004; Smolikov et al., 2008). Механизм, приводящий к этим различиям, не известен, но он, по-видимому, связан с состоянием хроматина X-хромосом (Cremer et al., 2006).

Созревающие мейоциты движутся вдоль гонады со скоростью, позволяющей им передвигаться на один ряд клеток примерно за один час (Crittenden et al., 2006; Woglar, Jantsch, 2014). Спаривание хромосом и синапсис совершаются в пределах 7–12 клеточных рядов транзитной зоны и, соответственно, за время от 7 до 12 ч. После этого мейоциты вступают в раннюю пахитену, когда СК построен по длине всех пар хромосом.

## Синапсис и построение СК

**Латеральные элементы СК.** Построение СК у *C. elegans* — постепенный процесс, в котором играет роль взаимодействие нескольких белков. Это выяснено путем изучения разных мутантов. Потеря одного белка (из-за мутации в его гене) влияла в той или иной степени на «загрузку» в морфологическую структуру латерального элемента других белков. В первую очередь (как и в каноническом мейозе) в составе хромосомных осей должен появиться мейоз-специфический когезин REC-8. После этого

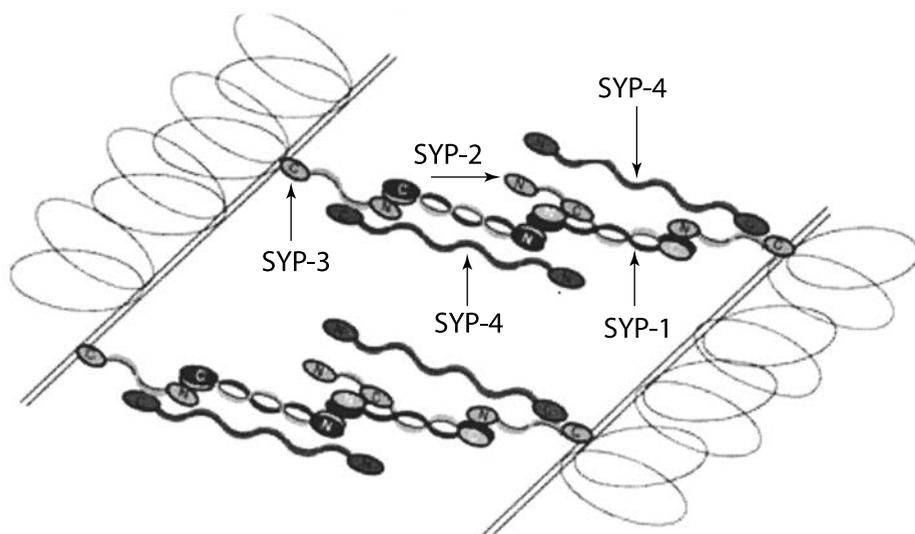
начинается формирование осевых элементов хромосом, а на их основе — латеральных элементов СК. Ключевую роль играет белковый домен NORMA, который содержится в белках HIM-3, HTP-1/2 и HTP-3, которые входят в состав латеральных элементов и располагаются по всей длине СК. Этот белковый домен имеет химическое сродство к ДНК и связывает латеральные элементы с ДНК хромосом. HIM-3 «загружается» в формирующиеся латеральные элементы СК первым и притягивает (рекрутирует) HTP-1/2, а появление HTP-1/2 обеспечивает дальнейшую загрузку белка HIM-3 до достижения полного количества этого белка в латеральных элементах (плюс-плюс взаимодействие двух процессов) (Woglar, Jantsch, 2014).

Белки HIM-3, HTP-1/2 и HTP-3 нужны в составе латеральных элементов СК не только как строительный материал, но и для подвижности хромосом в ходе постепенного синапсиса, а HIM-3 необходим для своевременного формирования двунитевых разрывов ДНК и их своевременного «процессирования». В частности, если осевые элементы хромосом дефектны из-за отсутствия белка HTP-1/2, то наблюдается гетерологичный синапсис (Martinez-Perez, Villeneuve, 2005). Белок HTP-3 необходим не только для построения осей хромосом (и латеральных элементов СК), но и для образования двунитевых разрывов ДНК: у мутантов *htp-3* «программируемые» естественным путем (т.е. с помощью активности гена *SPO-11* и его продукта — эндонуклеазы SPO-11) двунитевые разрывы ДНК не формируются, но такие разрывы способны репарироваться, если они индуцированы ионизирующими излучениями. У мутантов *him-3* наблюдается нормальная частота двунитевых разрывов, но их дальнейший процессинг задержан (Couteau et al., 2004).

Результаты экспериментов с мутантами *htp-3* и *him-3* ещё раз указывают на то, что у *C. elegans* формирование двунитевых разрывов ДНК происходит после построения СК, в отличие от порядка событий в ходе канонического мейоза (см. гл. 3).

На основе перечисленных наблюдений был также сделан вывод, что входящие в состав хромосомных осей и латеральных элементов СК белки, содержащие домен NORMA, играют не только структурную роль, но также начинают функционировать как медиаторы синапсиса, а затем и рекомбинации (MacQueen et al., 2005; Lui, Colaiacovo, 2013), привлекая к латеральным элементам функциональные белки мейотической рекомбинации. Это не удивительно, ибо именно домен NORMA соединяет эти белки с хромосомной ДНК.

**Центральная область СК** у *C. elegans*, как и у остальных эукариот, содержит поперечные филаменты, состоящие из интермедиатных белков. Однако, в отличие от дрожжей *S. cerevisiae* и дрозофилы, эти белки не формируют структуру, напоминающую застёжку-«молнию». Всего в центральной зоне обнаружено четыре таких белка. Ширина центрального пространства СК у *C. elegans* составляет в среднем 118 нм (измерения колеблются в диапазоне 98–125 нм) (Smolikov et al., 2008). Однако ни у одного из белков центрального пространства не хватает длины молекулы, чтобы перекрыть половину этого расстояния и стать «зубцом» застёжки-«молнии», как у дрожжей *S. cerevisiae*. Сочетая методы электронной микроскопии с иммуноокраской белков антителами, мечеными коллоидным золотом (для визуализации в трансмиссионном электронном микроскопе), и методы исследования взаимодействия этих белков *in vitro*, удалось реконструировать рисунок их построения в центральном пространстве СК (рис. 10.3).



**Рис. 10.3.** Схема молекулярной организации центрального пространства синаптонового комплекса у *C. elegans*.

Каждый поперечный филамент состоит из семи молекул белков, относящихся к четырём типам (SYP-1, 2, 3, 4), и под электронным микроскопом выглядит как сплошной филамент, а не как зубцы застёжки-«молнии», характерные для организмов с каноническим мейозом. На глобулярных доменах белков указана их принадлежность к C- и N-концам белковой молекулы. По: Lui, Colaiacovo, 2013, с изменениями.

Установлено, что белок SYP-1 образует димеры из параллельно уложенных молекул. В таком димере молекулы, имеющие протяжённую  $\alpha$ -спираль, уложены «валетом» так, что N-конец одной молекулы соседствует с C-концом другой, параллельно лежащей, но противоположно направленной молекулы (они притягиваются электростатически). Два таких димера контактируют концами, также за счет противоположных остаточных зарядов (не погашенных в «головке» димера), выстраиваются поперек центрального пространства и прикрепляются к латеральным элементам СК короткими молекулами белков SYP-3. Белки SYP-2 и SYP-4 служат дополнительными скрепками, укрепляющими по бокам соединение димеров SYP-1 в центре (рис. 10.3). В результате построения такой «лестницы» из длинных и коротких  $\alpha$ -спиральных молекул образуются молекулярные мостики между латеральными элементами, которые под электронным микроскопом выглядят как поперечные филаменты СК. Разумеется, они становятся видимыми в электронном микроскопе, если контрастированы тяжелыми металлами, которые поглощают электроны эмиссионного пучка электронов. Стопки молекулярных «скрепок» в центральной зоне поперечных филаментов создают картину центрального элемента, идущего параллельно латеральным элементам СК (т.е. центральную полосу «трехполосной ленты» СК).

Формирование СК начинается в центрах спаривания (Phillips et al., 2009) и продолжается автоматически вдоль пары хромосом. Непрерывность этого процесса и непрерывность структуры СК зависит от присутствия в клетках белка CRA-1 (Smolikov et al., 2008). Этот белок содержит домен, в состав которого входит повторяющийся аминокислотный мотив TPR (тетратрикопептид). У мутантов *cra-1* синаптомембранные комплексы прерывисты (пунктирны). Следовательно, самосборка (полимеризация) белков СК распространяется на ограниченное расстояние внутри клеточного ядра и нуждается в «подкреплении» или стимуляции, которую как-то обеспечивает белок CRA-1 (Smolikov et al., 2008). Следует напомнить, что в отличие от мейоза у почкующихся дрожжей, высших растений и млекопитающих, но подобно мейозу у дрозофилы, в мейозе у *C. elegans* формирование СК не зависит от кроссинговера (см. гл. 11). Таким образом, белок CRA-1 позволяет нематоду формировать СК независимо от того, что в хромосомах еще нет двунитевых разрывов ДНК. Это служит исключением из общего правила зависимости инициации синапсиса и формирования СК от появления двунитевых разрывов ДНК и начала формирования промежуточных продуктов рекомбинации.

Если из-за мутаций формирование центральной зоны СК нарушено, то дальнейшее развитие синапсиса (формирования СК) останавливается, центры спаривания хромосом остаются кластрированными, и дальнейшее развитие мейоза прекращается (Smolikov et al., 2009; Lui, Colaiacovo, 2013). Таким образом, как и в каноническом мейозе, формирование СК у *C. elegans* необходимо для полноценного синапсиса хромосом, но, помимо этого, без завершения синапсиса на хромосомах накапливаются и сохраняются до поздней пахитены промежуточные продукты рекомбинации — фокусы белка RAD-51, переносчика однострессовой ДНК в гомологичную хромосому (MacQueen et al., 2002; Colaiacovo et al., 2003).

## Инициация рекомбинации

Двунитевые разрывы ДНК, индуцируемые эндонуклеазой SPO-11, впервые появляются в транзитной зоне гонады (Alpi et al., 2003; Colaiacovo et al., 2003; Mets, Meyer, 2009). Однако, в отличие от других организмов, спаривание и формирование синаптомембранных комплексов у *C. elegans* не зависят не только от двунитевых разрывов ДНК, но и от начала рекомбинации (Dernburg et al., 1998). Более того, узнавание гомологов может быть экспериментально отделено от синапсиса (Colaiacovo et al., 2003), однако репарация двунитевых разрывов ДНК происходит после начала процесса синапсиса хромосом в присутствии и с помощью СК. Это обеспечивает каждой паре хромосом формирование обязательного кроссовера и одновременно ограничивает число перекрестов с помощью интерференции кроссинговера. Интерференцию обеспечивает непрерывная линейная структура СК (MacQueen et al., 2002; Alpi et al., 2003; Colaiacovo et al., 2003).

## Мейотический кроссинговер

Каждая хромосома *C. elegans* (как и у других организмов) претерпевает множественные двойные разрывы ДНК, но только один из них превращается в «кроссовер» — перекрест гомологов в результате кроссинговера между гомологичными хромосомами в каждой паре хромосом (Barnes et al., 1995; Mets, Meyer, 2009). Остальные разрывы подвергаются репарации (и именуются некроссоверными событиями, «некроссоверами»).

**Интерференция кроссинговера у *C. elegans*.** У *C. elegans* в мейозе дикого типа появление кроссоверов зависит от белков HIM-14/MSH-4 и MSH5, которые, соответственно, являются гомологами дрожжевых белков Msh4 и Msh5 (Page, Hawley, 2004). Но есть кроссоверы, которые зависят от белка MUS-81. Они возникают, например, в случае, когда в результате  $\gamma$ -облучения появляется избыток двойных разрывов ДНК и не все они могут быть репарированы как некроссоверы. Такая же ситуация складывается, когда в клетках *C. elegans* нет хеликазы RTEL-1, которая является гомологом белка Srs2 дрожжей (Youds et al., 2010).

Так же как у других организмов, у *C. elegans* интерференция кроссоверов зависит от непрерывности латеральных элементов синаптонемных комплексов. При мутации *him-3*, вызывающей появление прерывистых синаптонемных комплексов, интерференция уменьшается, и число кроссоверов на хромосомный набор увеличивается (Nabeshima et al., 2004).

На начало 2014 г. не было достоверно известно (Lui, Colaiacovo, 2013), когда совершается выбор между кроссоверной или некроссоверной репарацией двойных разрывов ДНК у *C. elegans*: сразу после их возникновения в ранней профазе I (как при классическом мейозе) или на поздних этапах репарации. Однако, уже существовали данные в пользу раннего решения, как и у других организмов. В частности, при мутации гена конденсина I, приводящей к удлинению синаптонемных комплексов и увеличению числа двойных разрывов ДНК, одновременно увеличивалось число кроссоверов на геном и изменялось их распределение по хромосомам (Tsai et al., 2008; Mets, Meyer, 2009). Авторы этих исследований выдвинули гипотезу, согласно которой удлинение хромосомных осей неизбежно должно приводить к уменьшению длины латеральных петель хроматина и увеличению числа этих петель, что влияет на распределение двойных разрывов ДНК вдоль хромосомы. Это доказано на других объектах путём сравнения СК у самцов и самок (Богданов, Коломиец, 2007). Далее, согласно этой гипотезе, двойные разрывы ДНК возникают преимущественно в мелких петлях хроматина и легче притягиваются несестринскими хроматидами к хромосомным осям. Поскольку белок HIM-3 взаимодействует с белком MRE-11, облегчающим расширение брешей разрезанной ДНК (Goodyer et al., 2008), притягивание разрезанных концов ДНК к хромосомной оси может осуществляться с помощью прямого взаимодействия этих белков. Поэтому у клеток с мутированным конденсином и увеличенным числом петель хроматина (и увеличенной плотностью их расположения), несущих двойные разрывы, увеличивается потенциал вероятных кроссоверов. Но, с другой стороны, выполнена серия экспериментов, в которых разными приёмами (внедрением транспозонов или ионизирующими излучениями) исследователи вызывали дополнительные двойные разрывы ДНК и преждевременную диссоциацию латеральных элементов СК, но такие поздно возникающие разрывы не приводили к появлению новых кроссоверов (Couteau, Zetka, 2011). Таким образом, в профазе I

мейоза у *C. elegans* может существовать два временных интервала, во время которых происходит превращение двойных разрывов ДНК в кроссоверы: ранняя лептотена или зиготена и поздняя пахитена (Lui, Colaiacovo, 2013). При этом двойные разрывы ДНК, возникшие под влиянием транспозонов уже после того, как сформированы синаптонемные комплексы, интерферируют с разрывами, возникшими в лептотене, ибо в итоге в каждом биваленте формируется только один кроссовер (Rosu et al., 2011).

Фактором, понижающим частоту кроссинговера, оказывается преждевременная диссоциация латеральных элементов синаптонемных комплексов. Такая ситуация имеет место у мутантов *msh-5 C. elegans*, а также в результате внесения двойных разрывов ДНК с помощью ионизирующих излучений (Couteau, Zetka, 2011). Это интерпретируется как необходимость сохранения синаптонемных комплексов для завершающего этапа превращения двунитевого разрыва ДНК в кроссовер. В противном случае, этот разрыв репарируется как не-кроссовер. Существенно, что преждевременная диссоциация латеральных элементов СК сопровождается потерей уровня ацетилирования лизина 5 в гистоне H2A, что, в свою очередь (у *C. elegans*), зависит от белка НТР-3 (Couteau, Zetka, 2011). Существует корреляция ацетилирования Lys5H2A с целостностью СК у *C. elegans* — дополнительный аргумент в пользу участия этого ацетилированного гистона в формировании взаимодействия хроматина с осевыми элементами хромосом и латеральными элементами СК.

## Особенности событий рекомбинации у *C. elegans*

Мейотическая рекомбинация у нематоды, как и у всех организмов, начинается с появления двойных разрывов ДНК под влиянием эндонуклеазы SPO-11. Эти разрывы затем расширяются с помощью белков MRE-11, RAD-50, COM-1, которые отсекают некоторое количество нуклеотидов на обоих 5'-концах разрыва; образуются два длинных 3'-конца однострессовой ДНК. Эти однострессовые концы покрываются белком, подобным белку RecA *Escherichia coli*. У дрожжей *S. cerevisiae* один 3'-конец покрывается белком Rad51, другой 3'-конец — гомологичным ему белком Dmc1 (отсутствует у *C. elegans*), и образуются длинные нуклеопротеидные филаменты. У нематоды они стабилизируются белком BRC-2, гомологом белка BRCA2 других организмов. SWI2/SNF2 — белок ремоделирования хроматина (гомолог RAD54 дрожжей и человека) — участвует в переносе нуклеопротеидного филамента и его инвазии в двойную спираль гомологичного сайта гомологичной хромосомы. В отсутствие белка SWI2/SNF2 двойные разрывы ДНК не репарируются и накапливаются (Mets, Meyer, 2009).

Как сообщалось в гл. 4, инвазия нуклеопротеидного филамента ДНК-RAD-51 в гомологичную молекулу ДНК приводит к формированию так называемой D-петли в молекуле-реципиенте, как и в классическом мейозе. «Ассистентом» в этом процессе у *C. elegans* служит RTEL-1, гомолог белка Srs2 дрожжей (Barber et al., 2008). Он также нужен для последующего синтеза ДНК, для закрытия «бреши» по типу кроссинговера или репарации и, тем самым, для всех последующих явлений («выбора» между кроссинговером-некроссинговером, между интерференцией и её отсутствием (Youds et al., 2010)).

**Отличие порядка событий при рекомбинации у *C. elegans*** от организмов с каноническим мейозом состоит в том, что перенос филаментов ДНК-RAD-51 в го-

мологичную хромосому у *C. elegans* наблюдается не во время лептотены или зиготены, а позднее — во время пахитены (Alpi et al., 2003; Colaiacovo et al., 2003), то есть после завершения формирования СК. Пик в динамике этих событий документируется по числу фокусов флуоресценции белка RAD-51 в клеточных ядрах. Поэтому перенос филамента ДНК-RAD-51 не участвует в инициации синапсиса гомологичных хромосом у *C. elegans*, как это имеет место в каноническом мейозе (см. гл. 4). Как указано в разделах про синапсис и синаптонемный комплекс в данной главе, синапсис у *C. elegans* иницируется активностью «центров спаривания» хромосом и их белков. Считается, что промоторами спаривания и синапсиса у нематоды служат белки (Giroux et al., 1989; Weiner, Kleckner, 1994; Philips et al., 2005), которые образуются в том месте клеточного ядра, где группируются центры спаривания.

Одиночный 3'-конец однострессовой ДНК, внедрённый в D-петлю сестринской хроматиды, естественно, не приводит к кроссинговеру, а лишь к сестринскому хроматидному обмену (некроссоверный путь репарации). Инвазия обоих 3'-концов в гомологичную хромосому происходит поочередно и приводит к построению двойного соединения Холлидея, которое может превратиться в кроссовер. В сайтах облигатно формирующегося кроссовера у *C. elegans* обнаружен белок ZHP-3 — гомолог промотора кроссинговера Zip3 почкующихся дрожжей, локализующийся на поперечных филаментах синаптонемных комплексов. В то время как в инвазии первого одиночного 3'-конца участвует SWI2/SNF2, для инвазии в гомологичную хромосому второго 3'-конца двойного разрыва ДНК у *S. cerevisiae* используется белок Rad52 (Lao et al., 2008 др.), а у *C. elegans* эта ферментативная активность приписывается ортологу этого белка BRC-2 (Petalcorin et al., 2006). Белки MSH-4/HIM-14 и MSH-5 также участвуют в последовательных стадиях этого процесса (Winand et al., 1998; Zalevsky et al., 1999; Colaiacovo et al., 2003).

Освобождение от соединений Холлидея требует разрезания соединительных нуклеотидных нитей этой структуры. Симметричное разрезание обеих нитей должно сопровождаться немедленным лигированием концов для восстановления двух теперь уже не связанных между собой двойных спиралей ДНК. Ассиметричный разрез требует дальнейшего процессинга — обработки концов. Главный фермент (резолваза), который освобождает две молекулы ДНК от соединений Холлидея у *C. elegans* и других модельных объектов, к 2013 г. ещё не был идентифицирован (Lui, Colaiacovo, 2013). Такой фермент был найден лишь у *S. pombe*. Это резолваза Mus81 (Boddy et al., 2001). Гомологичный фермент функционирует и у *C. elegans*, ибо у мутантов *mus-81* мейотические клетки останавливаются в развитии после прохождения пахитены, и это интерпретируется как неспособность соединений Холлидея пройти путь, необходимый для выхода из пахитены (Lui, Colaiacovo, 2013). У дрозофилы и у человека обнаружены разные резолвазы, отличные от Mus81 дрожжей, но ни один из этих ферментов не является достаточным для процессирования всех промежуточных продуктов рекомбинации — всех соединений Холлидея (Lui, Colaiacovo, 2013; Kohl, Sekelsky, 2013).

**Альтернативные пути рекомбинации.** Управляемая нормально функционирующей программой мейоза репарация двойных разрывов ДНК направлена на обеспечение достаточного уровня кроссинговера, который необходим для нормальной

сегрегации гомологичных хромосом. Однако существует альтернативный путь репарации двойных разрывов: негомологичное соединение концов (nonhomologous end joining, NHEJ). В этом случае функционирует фермент лигаза LIG-4, напрямую соединяющий концы ДНК (Smolikov et al., 2007). Во время нормального мейоза этот путь репарации не играет существенной роли (Martin et al., 2005), однако в случае отсутствия синапсиса гомологичных хромосом или при дефектах когезии сестринских хроматид этот путь репарации активируется (Colaiacovo et al., 2003; Smolikov et al., 2009). Например, у асинаптических мутантов *syn-3 C. elegans* некоторые двойные разрывы ДНК репарируются, и в результате нематоды производят небольшое число потомков (Smolikov et al., 2007). Это означает, что яйцеклетки, давшие начало этим потомкам, прошли через мейоз и избежали губительной анеуплоидии. Однако, если у таких мутантов нет белка REC-8 (в результате блокирования его синтеза путем РНК-интерференции), то репарация путем прямого соединения концов ДНК подавляется.

У *C. elegans*, в отличие от других эукариот, не обнаружено ортологов таких белков рекомбинации, как Dmc1, Hop2 и Mnd1 (Villeneuve, Hillers, 2001; MacQueen et al., 2002). Предполагается, что выбор пути репарации двойных разрывов ДНК в пользу кроссинговера стимулируется поведением хромосомных осей до наступления ранней пахитены. В ранней профазе I наблюдается начало связывания белка RAD-51 с хромосомными осями (пик локализации — позже). Этот процесс зависит от RAD-50 (Hayashi et al., 2007). «Загрузка» RAD-51 в хромосомы коррелирует с приобретением хромосомами способности вступать в кроссинговер с гомологичной хромосомой вместо случайной рекомбинации с негомологичной хромосомой. Однако зависимость загрузки RAD-51 от предварительного присутствия RAD-50 исчезает в средней пахитене, и, возможно, это связано с «кинетическим принуждением» хромосомных осей гомологичных хромосом (вступивших в контакт в центрах спаривания) продолжить процесс синапсиса с гомологичной хромосомой, не «отвлекаясь» на негомологичные контакты (Goldfarb, Lichten, 2002). Таким образом, поиск хромосомами гомологичного партнера для синапсиса у *C. elegans* не зависит от инвазии 3'-конца ДНК и образования ДНК-мостиков с гомологом, как у организмов с каноническим мейозом, не зависит от цис-активных районов хромосом, как у *Drosophila* (гл. 11), и от ундулирующих движений «конского хвоста», как у *S. pombe* (гл. 9). В отличие от перечисленных вспомогательных механизмов, спариванию у *C. elegans* способствует присутствие в хромосомах центров спаривания. Как объяснялось в первой части этой статьи, они создают условия для первичного контакта гомологичных хромосом.

Важно, что у *C. elegans* кроссинговер не случайно в пять раз чаще происходит в терминальных областях хромосом, составляющих 1/3 длины хромосом на том конце, где расположены центры спаривания (Hillers, Villeneuve, 2003). Эти области у *C. elegans* бедны генами (Barnes et al., 1995). Для сравнения: у почкующихся дрожжей горячие точки двунитевых разрывов ДНК преимущественно располагаются в промоторных областях генов, во внутренних районах хромосом (Pan et al., 2011). В отличие от всего этого у мышей половина событий рекомбинации происходит среди локусов генов (Smagulova et al., 2011).

## Пахитена

Во время ранней пахитены начинается перераспределение хроматина вдоль СК. Сначала он рыхло концентрируется у одного из полюсов ядра, но затем более или менее равномерно покрывает длину каждого СК и начинает прилегать к ядерной оболочке, и в конце стадии пахитены хроматин выстилает изнутри всю поверхность ядерной оболочки. Во время ранней пахитены происходит репарация почти всех двунитевых разрывов ДНК, и сайты зрелых кроссоверов становятся видимыми во время поздней пахитены (с помощью их маркёров — поздних рекомбинационных узелков-фокусов белка ZHP-3 (Bhalla et al., 2008; Yokoo et al., 2012; Rog, Dernburg, 2013)).

Рекомбинация проходит по классической схеме, то есть репарация двойных разрывов ДНК идет по неповрежденной матрице гомологичной хромосомы, но обязательно в присутствии зрелого СК и, очевидно, с его участием (Alpi et al., 2003; Colaiacovo et al., 2003; MacQueen et al., 2002).

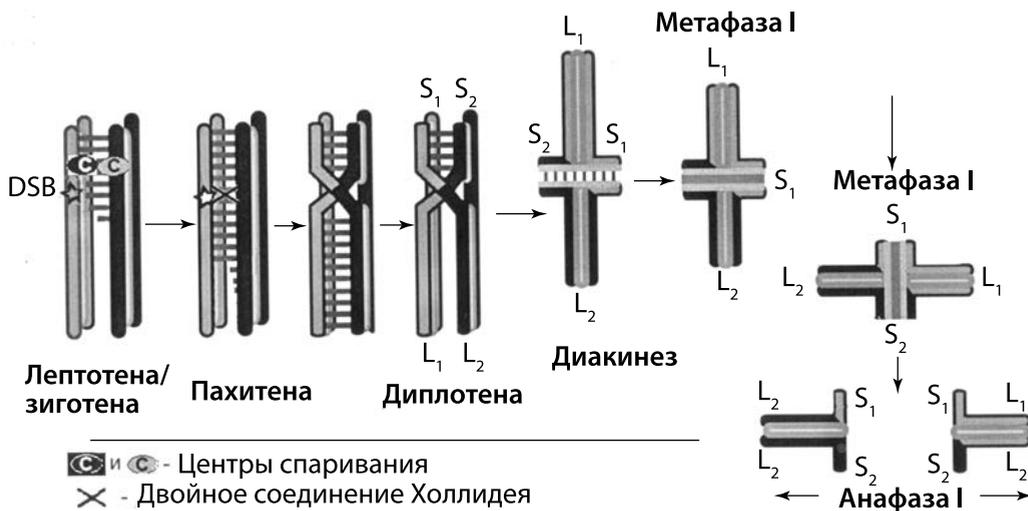
В конце пахитены или начале диплотены в каждой паре хромосом *C. elegans* возникает один кроссовер — хиазма. Как правило, кроссовер локализуется ближе к тому концу, который несет на себе центр спаривания. При этом СК разрушается, гомологичные хромосомы взаимно отталкиваются, и образуется крестообразная конфигурация, в которой точка перекреста (хиазма) расположена асимметрично. Она удерживает гомологи в составе бивалента. Вспомним, что хромосомы *C. elegans* — холоцентрические (полицентрические), и мы бы не могли говорить о плечах хромосом (которые у моноцентрических хромосом разделяются центромерой), если бы не эта хиазма. Но именно хиазма разделяет бивалент на две неравные по длине части, и они в мейозе у *C. elegans* называются соответственно коротким и длинным *плечами бивалента*. В метафазе I короткое плечо остаётся на экваторе веретена деления, множественные центромеры короткого плеча (и всё плечо) теряют свою кинетическую активность. Длинное плечо в это время вытягивается от экватора веретена в сторону его полюса. При этом длинное плечо одето «чехлом» активных кинетохоров, к которым крепятся многочисленные тубулиновые микротрубочки веретена деления.

В конце стадии пахитены ооциты *C. elegans* проходят контрольный пункт (checkpoint). Клетки с незавершенным синапсисом, хотя бы в одной паре хромосом, с дефектами формирования СК не пропускаются через этот контрольный пункт и подвергаются принудительной гибели — апоптозу (Bhalla, Dernburg, 2005). Для успешного функционирования этот контрольный пункт нуждается в присутствии и активности киназы PLK-2 и AAA-аденозинтрифосфатазы PCN-2 (Bhalla, Dernburg, 2005; Harper et al., 2011). Из экспериментов на дрожжах и дрозофиле известно, что гомологи PCN-2 нужны не только для мониторинга завершенности синапсиса хромосом, но и для морфогенеза хромосомных осей, и для правильного завершения рекомбинации и её интерференции (Wu, Burges, 2006; Joyce, McKim, 2009; Joshi et al., 2009). Таким образом, формирование и демонтаж синаптомных комплексов у *C. elegans* находятся под контролем нескольких регулирующих механизмов.

## Ремоделирование хромосом в поздней профазе I

Стадия диплотены начинается с разрушения СК (Nabeshima et al., 2005), и тогда хиазмы становятся видимыми (схема на рис. 10.4). Во время диакинеза конденсируются и становятся отчетливо видимыми шесть аутомных бивалентов, каждый из них только с одной хиазмой. Это свидетельствует о четкой работе механизма интерференции кроссинговера. Во время диакинеза мейотические ядра покидают цитоплазматический синцитий и обособливаются в индивидуальных клетках.

Во время диакинеза в биваленте не остается следов СК (рис. 10.4), кроме того локуса, где находится хиазма. В её формирование вовлечены белки ZHP-3, MSH-3, MSH-5 (Nabeshima et al., 2005; Bhalla et al., 2008). Белок ZHP-3 — это лигаза SUMO



**Рис. 10.4.** Структурные изменения в паре гомологичных хромосом в ходе мейоза I у *C. elegans*. В профазе I сестринские хроматиды соединяются клейсином REC-8 и белками латеральных элементов СК: HIM-3, HTP-1/2, HTP-3, LAB-1. На стадии зиготены гомологичные хромосомы соединяются в центрах спаривания («C» в овале), и начинает формироваться синаптомный комплекс. Появляются белки поперечных филаментов СК — SYP-1, 2, 3, 4 — и двуниевые разрывы ДНК (DSB). Во время пахитены завершается кроссинговер. Точка кроссинговера разделяет полицентрические хромосомы на короткое и длинное плечи.  $L_1$  и  $L_2$  — длинные плечи гомологичных хромосом. В них между сестринскими хроматидами в диплотене и диакинезе сохраняются белки REC-8, HIM-3, HTP-1/2, HTP-3, LAB-1.  $S_1$  и  $S_2$  — короткие плечи хромосом. В них между сестринскими хроматидами сохраняются белки REC-8, HIM-3, HTP-3 и белки поперечных филаментов (SYP-1, 2, 3, 4), но в позднем диакинезе и метафазе I белки SYP-1, 2, 3, 4 исчезают и заменяются белком AIR-2. По: Lui, Colaiacovo, 2013, с дополнениями.

ЕЗ, соединяющая концы молекул ДНК в точке кроссовера. Она гомологична белку Zip3 дрожжей *S. cerevisiae*. У нематоды, в отличие от дрожжей, этот белок не принимает участия в формировании центрального пространства СК, но без него невозможно завершение процесса кроссинговера.

Сначала, а именно, во время стадии пахитены, белок ZHP-3 располагается по всей длине СК, но во время поздней пахитены он исчезает из всех локусов, кроме локуса кроссинговера, и маркирует его (Jantsch et al., 2004; Bhalla et al., 2008). В опытах с мутантами и трансгенными нематодами, у которых была восстановлена функция белка, несущего полипептид SUMO, было установлено, что он нужен для удаления СК из всех локусов, кроме локуса хиазмы.

Окончательное формирование бивалентов в диакинезе и подготовка их к построению на экваторе веретена мейоза I зависит от сохранения когезии сестринских хроматид. Это, в свою очередь, зависит от ограничения действия фосфокиназы AIR-2 (de Carvalho et al., 2008) — гомолога киназы Aurora B, необходимой для гидролиза когезинов, соединяющих сестринские хроматиды. Это ограничение (запрет гидролиза) в каноническом мейозе обеспечивается мейотическими шугошинами. Предполагается, что белком, играющим роль шугошина в мейозе у *C. elegans*, служит белок LAB-1 (Kitajima et al., 2004; de Carvalho et al., 2008). В отсутствие LAB-1 киназа AIR-2 активна, и наблюдается неправильная организация компонентов СК. При этом демонтаж СК во время диплотены и диакинеза задерживается, и это нарушает течение мейоза.

Холоцентрическая природа хромосом нематоды требует уникального механизма — ансамбля белков для сегрегации гомологичных хромосом в мейозе по сравнению с моноцентрическими хромосомами большинства организмов с каноническим митозом и мейозом. **В митозе** у *C. elegans* кинетохоры покрывают почти всю длину сестринских хроматид, и к ним крепятся микротрубочки веретена (Albertson, Thomson, 1982). **В мейозе** холоцентрические хромосомы *C. elegans* формируют структуру, похожую на колпачок, который покрывает длинное плечо бивалента. Микротрубочки образуют пучок, который протягивается параллельно длинной оси каждого бивалента (Wignall, Villeneuve, 2009). К концу бивалента прикрепляется небольшое число микротрубочек, поэтому ориентация бивалента в веретене деления управляется взаимодействием кинетохоров, лежащих вдоль длинного плеча с латеральными пучками микротрубочек (Wignall, Villeneuve, 2009; Dumont et al., 2010). Это позволяет паре сестринских хроматид одного гомолога ориентироваться на один полюс веретена, а паре хроматид другого гомолога — на другой полюс. Во время сжатия веретена короткие плечи гомологов в бивалентах остаются прилегающими друг к другу в центре веретена. Несмотря на то, что кинетохоры способствуют правильной (для редукционного деления) ориентации хромосом в веретене, они не оказывают решающего влияния на сегрегацию гомологичных хромосом во время анафазы I (Dumont et al., 2010).

Дело в том, что микротрубочки образуют пучок между короткими плечами и могут двигать и толкать гомологичные хромосомы в противоположные стороны (Dumont et al., 2010). Решающую роль играет белок AIR-2, располагающийся на коротких плечах хромосом. Он привлекает к себе и активирует фосфокиназу BUB-1, необходимую для прохождения контрольного пункта функционирования веретена, и также рекрутирует (привлекает и активирует) моторные белки KLP-19 и CEMP-F и белок CLS-1 (CLASP), стабилизирующий микротрубочки (Dumont et al., 2010).

Таким образом, белок AIR-2 выполняет множественные функции: он служит маркером для начала расщепления когезина REC-8 и рекрутирует ансамбль белков, которые создают «машину» для активного разъединения гомологичных хромосом (Kaitna et al., 2002).

## Редукционное деление хромосом в мейозе I

Для того, чтобы обе сестринские хроматиды в составе каждого гомолога сохранились соединёнными в области центромеры в метафазе I и анафазе I, нужно сохранить когезию сестринских хроматид в центромере. Считается, что у *C. elegans* белок LAB-1 является антагонистом фосфорилазы AIR-2. Белок LAB-1 рекрутирует PPI-фосфатазы GSP-1 и GSP-2, которые дефосфорилируют REC-8 и тем самым предотвращают его расщепление сепаразой в длинных плечах бивалентов (Rogers et al., 2002).

В итоге мейоза I шесть пар хромосом *C. elegans* с колпачковыми кинетохорами на одном из концов расходятся редукционно.

## Заключение. Эволюционный аспект изучения мейоза у *C. elegans*

Необычная для большинства эукариот последовательность событий в ходе мейоза у *C. elegans* – сначала спаривание и старт синапсиса гомологичных хромосом, а потом инициация событий кроссинговера — позволяет изучать их как два параллельных процесса, связанных, однако, взаимными связями. Необычные белковые структуры хромосом — центры спаривания — до сих пор являются для исследователей уникальными структурами в плане эволюции механизмов мейоза. Не исключено, что центры спаривания появились в процессе видообразования *C. elegans* как вынужденное решение проблемы инициации синапсиса полицентрических хромосом, перегруженных множественными кинетохорами.

В целом мейоз у этой нематоды весьма совершенен, несмотря на полицентрическую структуру хромосом, затрудняющую работу кинетического аппарата мейоза. Молекулярный механизм кроссинговера у *C. elegans* оказался настолько надёжным благодаря своей высокой консервативности, а значит, совершенству деталей, что весь кинетический аппарат расхождения хромосом в анафазе I приспособился для использования единственной хиазмы в каждом биваленте. Это отличает мейоз у *C. elegans* от мейоза у других животных с полицентрическими хромосомами — червецов и щитовок (Coccoidea), а также тлей (Aphidoidea), — у которых из-за функционирования множественных кинетических центров (полицентрические хромосомы) гомологичные хромосомы потеряли способность сегрегировать в анафазе I, и первое деление мейоза оказалось эквационным (как митоз) (Богданов, 2016а, б). Этим организмам потребовалось повторное спаривание хроматид в мейозе II, чтобы осуществить гаплоидизацию гамет. Как мы видели в предыдущем разделе, геному *C. elegans* пришлось изобрести ремоделирование кинетохорной пластинки, по-

крывавшей в профазе I значительную часть длины хромосом, и создать некий паллиатив моноцентрической организации хромосом. Именно это обеспечило сохранение редуционного характера мейоза I: сегрегацию гомологичных хромосом в мейозе I, в отличие от инвертированного мейоза у кокцид и тлей с холокинетическими хромосомами (Богданов, 2016а, б; Heckman et al., 2014). В ходе этого эволюционного преобразования клеток зародышевого пути нематодам *C. elegans* удалось превратить кинетохорную пластинку в весьма оригинальный кинетохорный колпачок на конце каждой хромосомы. В тех и других случаях — у *C. elegans* и у других организмов с полицентрическими хромосомами — механизм кроссинговера остался одинаковым (Heckman et al., 2014; Богданов, 2016а, б). Это служит подтверждением того, что рекомбинация — молекулярная основа мейоза (Богданов, 2016б). При этом подтверждается, что синаптонемный комплекс — вспомогательная структура, без которой обходятся, например, дрожжи *Schizosaccharomyces pombe*, но которая оказалась очень полезной во всех прогрессивных филогенетических линиях эукариот. Консервативная схема мейоза настолько мощна, что ей мало препятствуют даже архаичная организация и неудобство для клеточного деления таких хромосом, какими являются холоцентрические хромосомы нематод, кокцид и некоторых растений (Богданов, 2016а; Heckman et al., 2014). Консерватизм основных молекулярных процессов мейоза существует, как это ни странно, несмотря на то, что ключевые мейоз-специфические белки, ферменты и медиаторы кроссинговера у разных организмов имеют весьма низкую степень гомологии.

## Глава 11.

# Нестандартный мейоз у дрозофилы — классического объекта генетики

Мейоз у дрозофилы отличается от канонического типа. У самцов нет синаптонемных комплексов, нет хиазм и нет кроссинговера. Эти классические признаки мейоза есть только у самок. Но у самок дрозофилы нет типичного для большинства эукариот построения хромосом в профазе I мейоза в виде букета — вспомогательного механизма для синапсиса гомологичных хромосом. Вместо этого прицентромерные гетерохроматические районы хромосом сливаются в хромоцентр. Это приводит к особенностям спаривания, синапсиса и сегрегации хромосом и к так называемым межхромосомным явлениям (эффектам). В поздней профазе I у самок дрозофилы хромосомы упакованы в кариосому, что присуще самкам и другим животным с нутриментарным типом питания яйцеклеток. Отличия мейоза у дрозофилы от классической схемы не сказываются существенным образом на его генетических последствиях. Среди модельных объектов для исследования мейоза дрозофила занимает особое место.

Мейоз у дрозофилы изучается давно и подробно. Причин этому две. Во-первых, дрозофила является первым генетическим объектом (с 1910 г.) и долгое время была одним из немногих модельных объектов генетики. Во-вторых, дрозофила остается во многом уникальной в плане цитогенетики, в том числе цитологии мейоза. В биологии часто исключительные случаи обеспечивают важный вклад в понимание фундаментальных механизмов. Это особенно верно в случае мейоза у дрозофилы (Orr-Weaver, 1995).

Мейоз у дрозофилы отличается от канонического рядом специфических особенностей. Во-первых, у самцов дрозофилы нет синаптонемных комплексов, нет генетической рекомбинации и нет хиазм. Во-вторых, у самок нет типичного для абсолютного большинства эукариот явления кластрирования теломер в одной зоне ядра в профазе I и построения хромосом в виде букета — важного вспомогательного механизма для синапсиса гомологичных хромосом. Вместо этого в профазе I все хромосомы соединяются центромерными районами в единый хромоцентр, что, вероятно, заменяет кластрирование теломер, но создает особенности спаривания, синапсиса и сегрегации хромосом и так называемые межхромосомные эффекты (Orr-Weaver, 1995). В-третьих, в поздней профазе I у самок все хромосомы упакованы в компактную кариосому, что, впрочем, присуще самкам и другим животным с нутриментарным типом питания яйцеклеток (Gruzova et al., 1972; Грузова, 1975; Orr-Weaver, 1995). В-четвертых, маленькая четвертая хромосома не претерпевает кроссинговера, не образует хиазмы, но сегрегирует успешно. Предполагается, что плотная упаковка хромосом в кариосоме поддерживает ассоциацию гомологов даже в необменных (некроссоверных) бивалентах (Orr-Weaver, 1995). Хаули с соавт. (Hawley et al., 1993) показали, что для правильного расхождения необмен-

ных хромосом нужна гомология. В ряде случаев могут расходиться и гетерологичные хромосомы, но за счет другого механизма (см. раздел «Хромоцентр»). В итоге у самок дрозофилы мейоз протекает с характерными морфологическими отличиями от классической схемы, что, однако, не сказывается существенным образом на его генетических последствиях.

## Общая морфология гонад у дрозофилы

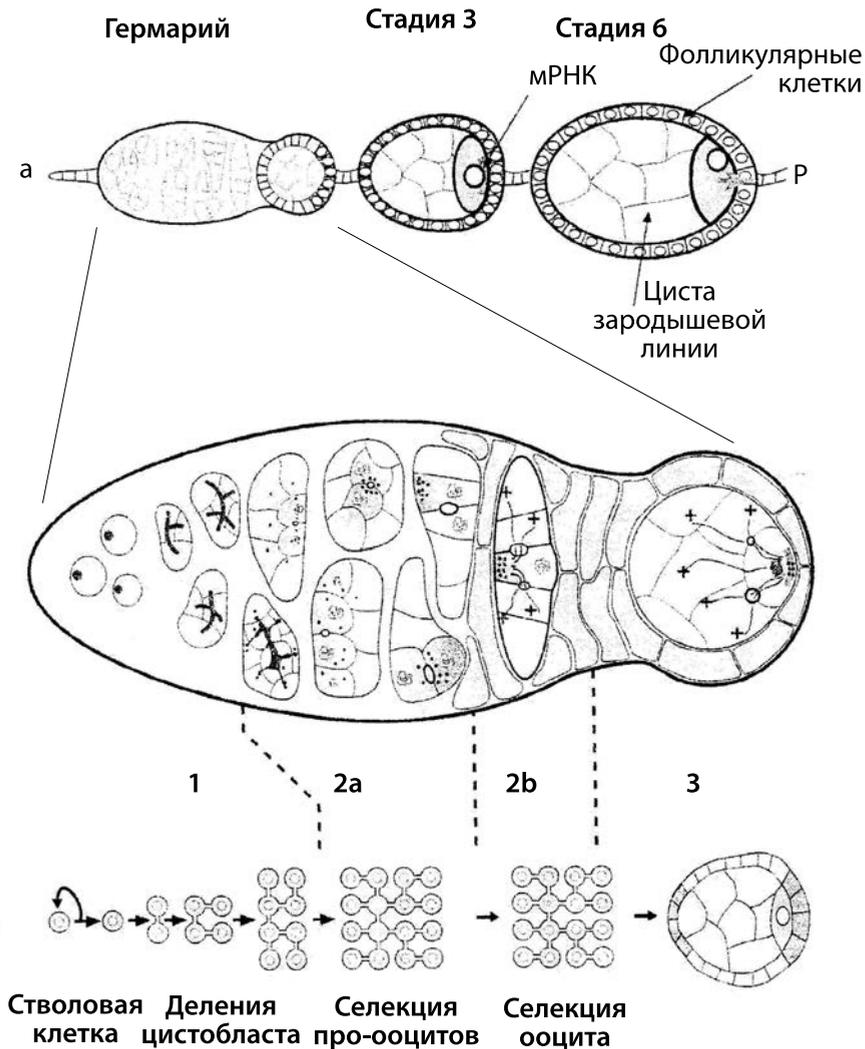
**Морфология гонад у самок. Оогенез.** Яичники дрозофилы представляют собой парные образования, расположенные в средней части брюшка. Размеры яичников у зрелых мух достигают 100 мкм. Каждый яичник состоит из 10–30 параллельных яйцевых трубочек — овариол. Каждая овариола подразделяется на гермарий и вителлярый. В самой верхней части гермария (рис. 11.1, район 1) находится стволовая клетка, периодически делящаяся на две не связанные между собой клетки, одна из которых остается стволовой, а другая путем последовательных митозов образует 16-клеточный кластер. Это происходит в гермарии.

Все клетки 16-клеточного кластера (цистоциты) связаны между собой пятнадцатью правильно распределенными кольцевыми каналами, так что два цистоцита имеют по 4 канала, два — по 3 канала, четыре — по 2 канала и восемь — по одному (рис. 11.1, нижняя часть). Две клетки с четырьмя кольцевыми каналами отличаются от остальных клеток кластера типом ядерной дифференцировки (они обе вступают в профазу мейоза в районе 2 гермария) (Cahoon, Hawley, 2013). Эти клетки называются про-ооцитами (рис. 11.1, верхняя часть, район 2а), а остальные клетки — предшественниками питающих клеток.

Дальнейшее развитие про-ооцитов происходит в вителлярии. Вителлярый содержит 4–9 линейно расположенных яйцевых камер (Литвинова, 1977; King, 1970a, b; Spradling, 1993).

На электронно-микроскопическом уровне про-ооциты характеризуются наличием синаптонемных комплексов (СК) (King, 1970a,b; Egel, 1978; Buning, 1994; McKim et al., 2002). Позже СК развиваются в разной степени и в других клетках кластера с меньшим количеством кольцевых каналов, где мейоз доходит до стадии зиготены (Carpenter, 1975a, 1994; Liu et al., 2002). Более того, молекулярные компоненты СК в прицентромерной области выявлены даже в клетках, делящихся митотически, в районе 1 гермария (Christophorou et al., 2013). Показано, что такое центромерное спаривание в митозе облегчает кластрирование центромер в мейозе (подробнее об этом см. ниже).

Активное деление половых клеток происходит в гонадах молодых личинок (Литвинова, 1977). Образование цистоцитов и их дифференцировка на два типа клеток начинаются у куколки и продолжают у взрослой мухи. Все эти процессы проходят в верхней трети гермария. Далее кластер начинает двигаться вниз по гермарию, покрываясь слоем фолликулярных клеток (King, 1970a,b; Egel, 1978; McKim et al., 2002). В гермарии обнаруживается разное количество 16-клеточных кластеров — от четырех до одиннадцати. Они расположены в определенном порядке, хотя и не линейно (Carpenter, 1975a; McKim et al., 2002).



**Рис. 11.1.** Ранний оогенез у дрозофилы (по Huynh, Johnson, 2004, с изменениями). Показаны гермарий и первые яйцевые камеры (верхний ряд), затем гермарий крупным планом с обозначенными в нем районами (средний ряд), а также схема образования 16-клеточного кластера (нижний ряд). а (anterior) — передний отдел овариолы, р (posterior) — задний отдел овариолы.

При переходе из гермария в вителлярый (рис. 11.1, район 2б) в ядре одного из про-ооцитов СК постепенно исчезает. Таким образом, мейоз в этой клетке не завершается, и она становится питающей клеткой. Продолжает развиваться только один ооцит (рис. 11.1, район 3), и только в нем происходит мейоз. Выбор ооцита

из двух про-ооцитов определяется установлением определенной асимметрии еще во время первого деления цистобласта, и эта асимметрия поддерживается вплоть до дифференциации ооцита (Huynh, Johnson, 2004). Начиная с этого времени, ооцит располагается в нижней части кластера, а кластер приобретает форму шара (Rasmussen, 1974; Huynh, Johnson, 2004). В это время митохондрии, centrosомы, пузырьки Гольджи, маркерные белки (BicD, Orb, Btz, Cup) и мРНК (*osk*, *BicD*, *orb*) образуют в передней части ооцита типичное тельце Бальбиани. Ранее было показано, что ооцитом становится тот из двух про-ооцитов, который имеет большую площадь контакта с фолликулярными клетками (Koch et al., 1967).

Вителлярный подразделяется на яйцевые камеры. Они проходят ряд последовательных стадий ( $S_1$  в гермари и  $S_2-S_{14}$  в вителлярии), заканчивая стадией  $S_{14}$  — зрелым первичным ооцитом. На стадиях  $S_1-S_6$  все 16 клеток кластера растут одинаково. Потом ооцит растет значительно быстрее питающих клеток, которые постепенно дегенерируют (King, 1970a,b). Хромосомы начинают конденсироваться на стадии  $S_3$  и собираются в компактную кариосому. Кариосомы наблюдаются в оогенезе насекомых, некоторых червей, гидр и пиявок. У *D. virilis* и *C. elegans* кариосома формируется и в мужском мейозе (Bogolyubov, 2018).

Кариосома у самок дрозофилы расположена в центре ядра и имеет небольшие размеры (1,5–2 мкм). Обычно кариосома используется для замалчивания хроматина. Но у дрозофилы замалчивание неполное. На стадиях  $S_9-S_{10}$  происходит расширение кариосомы, индивидуализация хромосом и синтез РНК, после чего она опять компактизуется. Кариосома связана с нехромосомными структурами, в частности, с ядерным тельцем (nuclear body). Сначала это тельце имеет большие размеры, сопоставимые с размерами кариосомы, а потом распадается на несколько мелких телец. Сейчас ядерное тельце считают специфическим тельцем Кахала (Cajal body). Кариосома способствует правильному формированию микротрубочек веретена вокруг себя (Bogolyubov, 2018).

Для формирования кариосомы необходимы многие белки, участвующие в завершении мейоза и оогенезе (но не белки синаптонемного комплекса). В частности, нужны белки семейства SMC (не когезины), а также актин.

На стадии  $S_{13}$ , когда исчезает ядерная оболочка, кариосома оказывается в ооплазме и называется уже кариосферой (King, 1970a,b). Зрелое яйцо «застывает» на стадии метафазы I (Литвинова, 1977).

**Строение гонад у самок дрозофилы. Сперматогенез.** Семенники дрозофилы представляют собой спирально закрученные трубочки длиной около двух миллиметров и диаметром около 100 мкм. В трубочке семенника верхнюю часть занимают первичные половые клетки. Далее располагаются кластеры сперматоцитов, занимающие около 1/3 длины трубочки. Остальная часть семенника занята пучками удлинённых сперматид (Литвинова, 1977).

Каждый вторичный сперматогоний дает 16 первичных сперматоцитов (ПС), из которых в результате двух делений мейоза образуются 64 сперматиды. Все клетки кластера ПС образуют синцитий и соединены кольцевыми каналами. Распределение каналов по клеткам предположительно такое же, как у самок. Развитие клеток кластера синхронно.

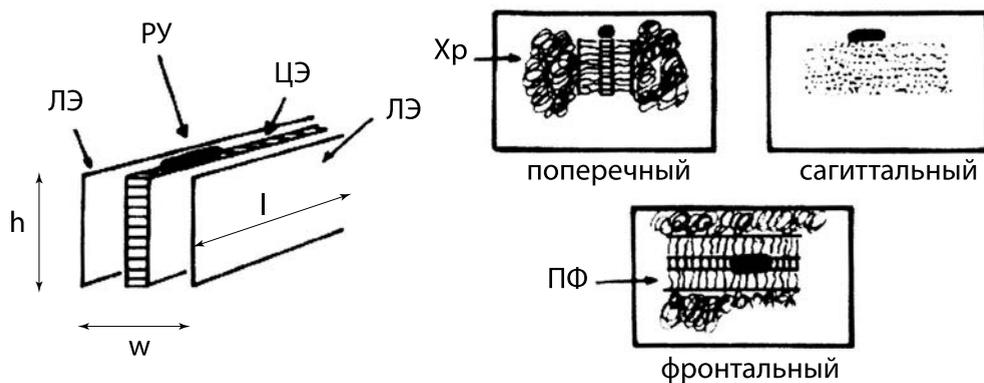
## Начало мейоза: инициация спаривания гомологичных хромосом

В мейозе у большинства эукариот инициация спаривания гомологичных хромосом начинается после формирования двойных разрывов ДНК (DSBs, double strand breaks). Они возникают с помощью эндонуклеазы SPO11 (Page, Hawley, 2003). Однако у некоторых организмов, включая нематоду *Caenorhabditis elegans* и дрозофилу, гомологичное спаривание осуществляется в норме в отсутствие двойных разрывов ДНК. Такое спаривание может обеспечиваться либо механизмом сохранения премеитического спаривания, либо спариванием гомологов на основе агрегации белков, специфически связывающихся с ДНК. Долгое время считалось, что у дрозофилы митотическое спаривание предшествует мейотическому, облегчая его в отсутствие двойных разрывов ДНК. Однако недавние исследования показали, что происходят совсем другие процессы (Cahoon, Hawley, 2013). Во-первых, гомологичные хромосомы не спарены в стволовых клетках зародышевой линии. Их спаривание начинается за пять митотических делений до мейоза. Во-вторых, в этих клетках (в составе 4-клеточной цисты) обнаружены белки синаптонемных комплексов, ассоциированные с перицентромерными районами хромосом (Christophorou et al., 2013). Таким образом, мейотическое спаривание хромосом у дрозофилы начинается гораздо раньше, чем считалось, а именно, во время делений путем митоза, предшествующих мейозу. Установлено, что некоторые белки, входящие в состав СК, — *Sona* и *C(3)G* — присутствуют в районе 1 гермария (рис. 11.1), в делящихся путем митоза клетках (Christophorou et al, 2013) и вызывают спаривание центромерных областей хромосом. Непонятно, как в этом случае сестринские хроматиды могут расходиться без ошибок. Высказано предположение, что этот «центромерный СК» оогониев отличается от истинного мейотического, характерного для всей длины хромосом ооцитов.

Недавно было показано, что существуют три стадии инициации синапсиса гомологичных хромосом (Tanneti et al., 2011). В ооцитах на стадии ранней зиготены синапсис наблюдается только в центромерной области. В ооцитах средней зиготены СК начинает формироваться в нескольких эухроматиновых сайтах, и этот процесс зависит от когезинового белка ORD. В поздней зиготене СК формируются уже во множестве сайтов, и для этого процесса необходим белок *C(2)M*. События в поздней зиготене не зависят от событий в средней зиготене, хотя для обеих стадий необходимо наличие когезинов *SMC1* и *SMC3*. Авторы работы предположили, что концентрация когезиновых белков в определенных сайтах необходима для инициации спаривания гомологичных хромосом в отсутствие двойных разрывов ДНК.

## Синаптонемный комплекс у самок дрозофилы

**Морфология СК.** Синаптонемный комплекс у самок дрозофилы имеет типичный вид (Carpenter, 1975a, 1979). Это трехчленная лентоподобная структура, состоящая из двух латеральных элементов (ширина каждого около 17 нм) и центрального пространства между ними шириной 100–120 нм. В середине центрального пространства лежит хорошо структурированный продольный центральный элемент (рис. 11.2).



**Рис. 11.2.** Схема строения синаптонемного комплекса (СК) дрозофилы.

Показано трехмерное изображение СК и срезы в трех плоскостях. ЛЭ — латеральные элементы СК, ЦЭ — центральный элемент, РУ — рекомбинационный узелок, Хр — петли хроматина,  $h$  — условная высота СК,  $w$  — ширина СК,  $l$  — длина СК. По: Carpenter, 1979, с изменениями.

Формирование СК у дрозофилы происходит не так, как у других организмов. Осевые тяжи, они же — неспаренные латеральные элементы (ЛЭ), в лептотене не выявляются (Rasmussen, 1974). Формирование СК начинается в зиготене, протекающей в гермари, а полностью сформированный СК выявляется в пахитене, которая тоже начинается в гермари (Carpenter, 1975a). Иногда у дрозофилы наблюдается полное или частичное отсутствие синапсиса в целом плече хромосомы, а в дистальной части X-хромосомы СК часто прерывист (Carpenter, 1979). Теломерные концы бивалентов прикреплены к ядерной мембране, но нет типичной для других видов соединительной пластинки между теломерой и ядерной мембраной. В диплотене происходит дезинтеграция СК, и остаются лишь его аморфные фрагменты. Судя по исследованиям на других организмах, эти остатки СК должны сохраняться в местах хиазм (Rasmussen, Holm, 1980; Босток, Самнер, 1981).

В профазе I мейоза у дрозофилы хромосомы объединены в хромоцентр. Отражением такой организации ядра является наличие двух морфологических типов СК — эухроматинового и гетерохроматинового. Эухроматиновый СК имеет четкий решетчатый центральный элемент шириной 28–32 нм, связанный с аморфными латеральными элементами тонкими поперечными филаментами (Carpenter, 1975a). Высота СК варьирует внутри клетки и между клетками в пределах 75–210 нм. Хроматин не окружает весь СК, а лежит сбоку от латеральных элементов (рис. 11.2). Эухроматиновый СК полужесткий, он может вращаться вокруг оси центрального элемента и изгибаться в сагиттальной (вертикальной) плоскости. Во фронтальной (горизонтальной) плоскости возможность изгиба значительно меньше (Carpenter, 1975a).

Гетерохроматиновый СК имеет значительно менее четкую структуру. Центральный элемент аморфен, латеральные элементы часто неотличимы от хроматина. Ширина центрального района — как у эухроматинового СК, а высота — 30–75 нм.

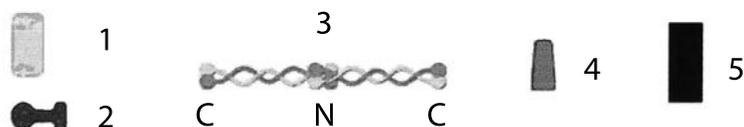
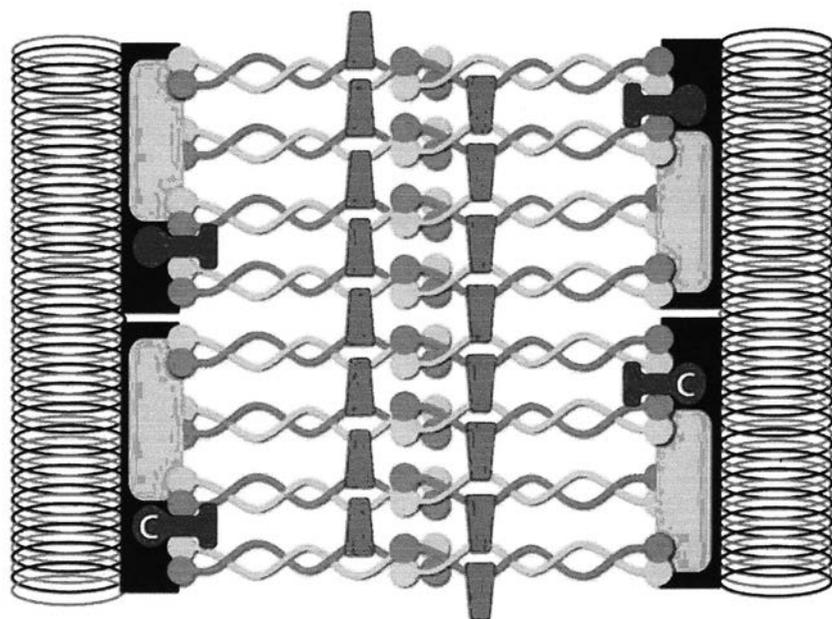
Хроматин более конденсирован и окружает весь СК. Этот СК более гибкий, чем эухроматиновый. Чем дальше от центромеры, тем СК становится выше и более четко структурирован, причем гетерохроматиновый СК переходит в эухроматиновый без перерыва.

**Белки, входящие в состав синаптонемного комплекса.** Как известно, при сохранении общей морфологии синаптонемного комплекса в разных эволюционных ветвях эукариот (грибы, растения, животные) белки, входящие в состав этой структуры, весьма различаются (Penkina et al., 2002; Anuradha, Muniyappa, 2005; Grishaeva, Bogdanov, 2014). Одинаковая функция белков, составляющих СК, не связана с гомологией их первичной структуры. В этом отношении дрозофила вообще является уникальным объектом, поскольку те белки, которые формируют ее СК, не имеют ортологов у других организмов (McKim et al., 2002; Page et al., 2008; Grishaeva, Bogdanov, 2014).

Синапсис хромосом в мейозе у дрозофилы формируется под контролем гена *c(3)G* (Smith, King, 1968), открытого в далеком 1922 году. В 2001 г. было установлено, что белок, кодируемый этим геном, формирует поперечные филаменты СК дрозофилы (Page, Hawley, 2001; Grishaeva et al., 2001). Ген *c(3)G*, *crossover suppressor on 3 of Goben* (генетические координаты — 3-58 (хромосома 3); цитологические координаты по карте Бриджеса — 89A5, диск 89, секция A5) (FlyBase). Этот белок длиной 744 а.к. имеет протяженный участок альфа-спиральной структуры в центральной части молекулы. Такая структура позволяет двум параллельно уложенным молекулам белка C(3)G формировать палочковидный димер, а два противоположно направленных димера формируют поперечный филамент СК (Roeder, 1997). Белок C(3)G по своему размеру, доменной организации и вторичной структуре похож на белки SYCP1, Zip1 и ZYP1, выполняющие аналогичную функцию у многоклеточных животных, грибов и растений соответственно (Grishaeva et al., 2001; Богданов и др., 2002). В составе этого белка выявляются два бактериальных домена SMC (structural maintenance of chromosomes), которые встречаются во многих белках, структурирующих хромосому (Grishaeva, Bogdanov, 2014). Некоторое своеобразие физико-химических свойств этого белка не мешает ему выполнять требуемую функцию, что показано нами при моделировании взаимодействия двух молекул C(3)G (Bogdanov et al., 2007).

В состав СК дрозофилы входит также белок C(2)M (Manheim, McKim, 2003). Соответствующий ген — *c(2)M*, *crossover suppressor on 2 of Manheim* (2-52; 35F1) (FlyBase). Хотя белок C(2)M имеет отдаленное родство с клейсинами других организмов, к которым принадлежит мейоз-специфичный когезин REC8, вероятно, он не участвует в когезии сестринских хроматид, а выполняет функции внутри СК. Этот белок имеет длину 570 а.к., в его составе обнаружены когезиновые домены RAD21 и REC8 (Grishaeva, Bogdanov, 2014). Возможно, он не является компонентом латеральных элементов СК, но соединяет белок C(3)G с латеральным элементом (рис. 11.3) (Hawley, 2011). Этот белок не содержит альфа-спиральных участков (Гришаева, не опубликовано).

Еще один кандидат в белки латеральных элементов СК у дрозофилы — ORD — был открыт достаточно давно (Bickel et al., 1996), однако о его возможной роли в построении СК заговорили позднее (Hawley, 2011). Ранее было известно, что мутации



**Рис. 11.3.** Структура синаптонемного комплекса дрозофилы.

1 — белок ORD; 2 — белок C(2)M; 3 — два димера белка C(3)G, расположенные тандемно, каждый белок состоит из параллельно расположенных молекул с длинными альфа-спиралями; 4 — белок C(3)G, образующий пиляры; 5 — белки латеральных элементов СК; N, C обозначают N- и C-концевые глобулярные домены белка C(3)G. По: Hawley, 2011, с изменениями.

по гену, кодирующему этот белок, нарушают когезию сестринских хроматид и вызывают их преждевременное расхождение в мейозе, а также снижение частоты кроссинговера (Гришаева, Богданов, 2000). Белок ORD имеет длину 479 а.к., в его составе обнаруживается небольшой домен рибонуклеотид-дифосфатредуктазы. Кроме того, в средней части белка имеется небольшой участок альфа-спиральной конфигурации (Гришаева, не опубликовано). Белок кодируется геном *ord* (2-102; 59D4) (FlyBase).

Четвертый известный на сегодня белок СК у дрозофилы — CORONA (CONA) (Page et al., 2008). Этот небольшой белок длиной 207 а.к. стабилизирует поперечные филаменты СК, состоящие из димеров C(3)G (рис. 11.3), и является классиче-

ским «пилларом», поддерживающим несколько поперечных филаментов (Hawley, 2011). Белок не содержит альфа-спиральных участков, не имеет функциональных доменов. Соответствующий ген — *corona* (3-63; 91A5) (FlyBase).

Недавно был открыт пятый белок СК у дрозофилы — *Corolla* (Collins et al., 2014). Он является компонентом центрального района СК (возможно, даже компонентом поперечных филаментов СК) и взаимодействует с белком CONA. Его длина составляет 554 а.к., и в его составе обнаружено три альфа-спиральных фрагмента. В состав белка входит также домен CDK-activating kinase assembly factor MAT1 (Гришаева, не опубликовано). Белок кодируется геном *corolla* (1-57; 16B10) (FlyBase). Белок *Corolla* имеет три коротких участка гомологии с белком SYP-4 у *C. elegans*, входящим в состав СК этой нематоды и, возможно, является его ортологом (Collins et al., 2014). Это единственный случай сходства белков СК дрозофилы с белками других эукариот, выполняющими такие же структурные функции в составе их СК. Неизвестно, какое место белок *Corolla* занимает в молекулярной структуре СК у дрозофилы. Он не указан на рис. 11.3; возможно, этот макет молекулярной организации СК дрозофилы претерпит в ближайшее время некоторые изменения.

## Кроссинговер, рекомбинационные узелки, хиазмы

Как было указано ранее, формирование СК у дрозофилы не зависит от появления двухцепочечных разрывов ДНК. Однако наблюдается обратная зависимость: для появления и репарации двухцепочечных разрывов ДНК нужен СК. Белок MEI-P22 (не ортолог SPO11, ортологом является MEI-W68) не имеет аналогов у других организмов, но у *D. melanogaster* именно он необходим для формирования двухцепочечных разрывов ДНК. MEI-P22 садится на места, которые в будущем станут сайтами таких разрывов (McKim et al., 2002). Фокусы этого белка появляются ненадолго в ранней профазе I мейоза на стадии 2a развития гермария (рис. 11.1). Фокусы фосфорилированного гистона  $\gamma$ H2AX, являющегося маркером двухцепочечных разрывов ДНК, появляются на хромосомах после завершения постройки СК. Количество двойных разрывов ДНК у самок дрозофилы, видимо, регулируется как раз ограниченным доступом к хромосомам для белка MEI-P22. Может быть, этому способствуют упомянутые выше изменения в морфологии СК в ходе пахитены — его укорочение и утолщение (Carpenter, 1975a). Всего у дрозофилы формируется до 24 двойных разрывов ДНК на клетку (Jang et al., 2003; Lake, Hawley, 2012). Белок MEI-P22 кодируется геном *mei-P22* (3-19; 65E9) (FlyBase).

Синаптонемный комплекс необходим также для успешного прохождения кроссинговера (Heyting, 1996; Page, Hawley, 2004). В частности, участие СК в молекулярном механизме кроссинговера у дрозофилы связывают с активностью одного из компонентов СК — белка C(2)M (McKim et al., 2002). Это отличает дрозофилу от других модельных видов, например, дрожжей *S. cerevisiae*, у которых в отсутствие СК у мутантов *zip1* частота кроссинговера не стремится к нулю, а сокращается лишь наполовину.

Маркерами участков рекомбинации на хромосомах являются так называемые рекомбинационные узелки (РУ) — электронно-плотные структуры, ассоциированные

с синаптонемным комплексом (рис. 11.2) и состоящие из целого комплекса белков, участвующих в рекомбинации (Penkina et al., 2002; Basheva et al., 2008). РУ присутствуют в пахитене у всех организмов, претерпевающих рекомбинацию (Carpenter, 1979). У дрозофилы выявлено два морфологических типа РУ — сферические и эллипсоидные (Carpenter, 1975b). Два вида РУ наблюдали также у зеленой водоросли хламидомонады, гриба нейроспоры и многих других организмов (Zickler, Kleckner, 1999). Они различаются по размеру, количеству на ядро, распределению вдоль плеч бивалентов, времени их появления и составу содержащихся в них белков. Эллипсоидные РУ появляются и исчезают раньше. Они распределены более или менее однообразно вдоль плеч хромосом, их количество больше, чем количество сферических РУ. Распределение сферических РУ совпадает с распределением событий кроссинговера. Они, как и хиазмы, проявляют интерференцию, чего не наблюдается для эллипсоидных РУ. Возможно, эллипсоидные РУ отмечают места генной конверсии (нереципрокного обмена) (Carpenter, 1979). В обоих типах РУ происходит синтез ДНК, что подтверждает их участие в событиях генетической рекомбинации (Carpenter, 1981).

Единственным идентифицированным на сегодня структурным компонентом РУ у дрозофилы является белок *Vilya* длиной 237 а.к. (ген *vilya*, координаты 1-1,5; 3B3) (FlyBase). Он относится к семейству белков RING Finger и несет в себе домен zinc-RING finger и суперспирализованный домен, характерный для белков, ассоциированных с полярным тельцем веретена. Этот белок гомологичен Zip3-подобным белкам, определяющим судьбу DSBs у других организмов. У дрозофилы он маркирует сайты кроссинговера (Lake et al., 2015).

Комплекс белков, входящих в РУ, довольно полно изучен у дрожжей и млекопитающих (Ross-Macdonald, Roeder, 1994; Hollingsworth et al., 1995; Hunter, Borts, 1997; Chua, Roeder, 1998; Moens et al., 2001; Basheva et al., 2008) и, в силу консерватизма молекулярных основ (механизмов) мейоза, эти представления переносятся и на дрозофилу. Тем не менее, белки РУ, несомненно, будут исследоваться и у дрозофилы, и это может увеличить объем представлений об изменчивости важных специфических белков мейоза.

Комплекс белков, входящих в РУ, меняется в ходе профазы. В его состав входят ферменты рекомбинации и структурные белки. Из исследований на дрожжах *S. cerevisiae* известно, что SPO11 (эндонуклеаза) создает двухцепочечные разрывы в ДНК. Затем появляются ранние РУ. В них содержится комплекс белков Rad50/Mre11/Xrs2, необходимый для процессирования одностебельных концов ДНК в сайтах DSBs (Chua, Roeder, 1998). DMC1 (мейотический гомолог RAD21) направляет 3'-концы к хроматиде другого гомолога, RAD51 взаимодействует с белками, которые вызывают деградацию 5'-концов. Потом RPA и RAD52 вытесняют RAD51/DMC1 из РУ, туда же садится белок BLM (Moens et al., 2001). В состав поздних РУ входит фермент замены неправильно вставленных нуклеотидов — MLH1, как это установлено на млекопитающих (Basheva et al., 2008) и дрожжах (Hunter, Borts, 1997). У дрожжей в составе РУ определяются также ферменты Msh4 и Msh5 (Ross-Macdonald, Roeder, 1994; Hollingsworth et al., 1995).

Важный вопрос — распределение событий кроссинговера (и хиазм) вдоль плеч хромосом. У дрозофилы аномалии мейоза на всех стадиях мейотической рекомбинации до разрешения структуры Холлидея влияют на распределение событий обме-

на вдоль хромосом (McKim et al., 2002). Это важно потому, что дистальные хиазмы не могут должным образом удерживать хромосомы в метафазе I, а проксимальные (близкие к центромере) трудно разрешаются, поскольку этот процесс происходит не вследствие их терминализации, а путем потери контакта (когезии) сестринских хроматид. По данным статистики, на одно плечо большой хромосомы у дрозофилы приходится чуть более одного кроссинговера и, соответственно, одна хиазма, причем с большей вероятностью можно сказать, что это будет обмен в средней части плеча (Hawley et al., 1993). Вблизи центромеры кроссинговер подавлен, что может объясняться наличием гетерохроматинового хромоцентра. Гетерохроматин всегда ингибирует кроссинговер в соседних локусах (Lima-de Faria, 1983; Прокофьева-Бельговская, 1986). Однако наблюдали и исключения из этого правила. Так, избыток двойных обменов был выявлен в перичентромерном сегменте хромосомы 3, причём его генетическая длина составляла всего 4 сМ, а физическая — 25% длины всей хромосомы (Sinclair, 1975). Такие данные были получены и для других аутосом дрозофилы, но не для X-хромосомы (см. Aggarwal et al., 2015).

Интересно воздействие различных перестроек хромосом на частоту и локализацию событий кроссинговера у дрозофилы. Так, гетерозиготные инверсии затрудняют спаривание и кроссинговер в инвертированных районах, но увеличивают частоту кроссинговера в неинвертированных (Grell, 1976). Кроме того, гетерозиготные инверсии влияют на кроссинговер в других хромосомах (так называемый межхромосомный эффект) (Lucchesi, Suzuki, 1968; Lucchesi, 1976). Таким же эффектом обладают и гетерозиготные транслокации, а также компаунды XY и XX (Suzuki, 1963). Путем перестроек гетерохроматина была показана также его роль в регуляции рекомбинации. Оказалось, что делеции гетерохроматина уменьшают кроссинговер не только в своей хромосоме, но и в других, интактных хромосомах (Yamamoto, 1979).

## Хромоцентр

Изучение поведения хромосом в мейозе у самок дрозофилы выявило ряд черт, свидетельствующих об отсутствии независимого поведения негомологичных хромосом. Причем это касается не только коориентации хромосом во время первого деления мейоза, но и частоты кроссинговера во всем геноме дрозофилы (Hawley et al., 1993). К необычным генетическим феноменам в мейозе у дрозофилы можно отнести редко наблюдаемое нерасхождение хромосом (Carpenter, 1973), неслучайное распределение негомологичных хромосом (Oksala, 1962) и межхромосомный эффект на нерасхождение хромосом и на кроссинговер (Cooper et al., 1955). В случае нарушения спаривания хотя бы в одной паре гомологов или в присутствии добавочных хромосом (унивалентов) наблюдали нерасхождение хромосом, коориентацию негомологов в метафазе I и повышение частоты кроссинговера в нормально спарившихся районах и целых хромосомах. Наблюдали также отсутствие обменов в хромосомах при их первичном или вторичном нерасхождении (Grell, 1976).

Объяснение межхромосомных эффектов многие исследователи связывали с присутствием хромоцентра, объединяющего все прицентромерные районы хромосом дрозофилы в единое целое (Dävring, Sunner, 1973; Nokkala, Puro, 1976; Novitski,

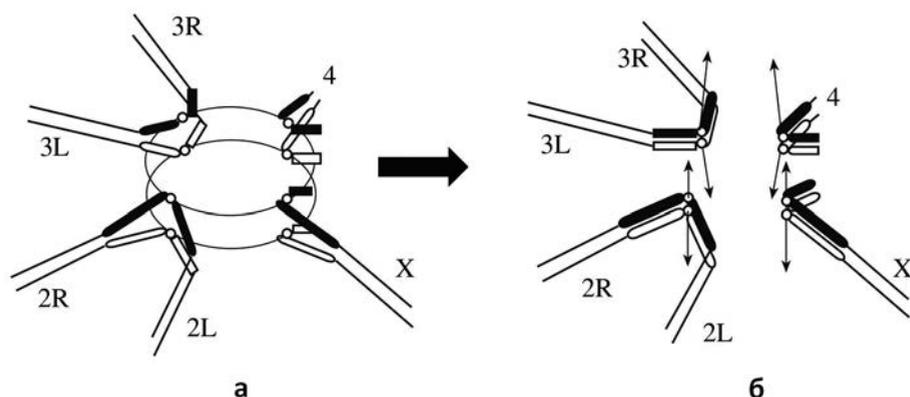
Puro, 1978, цит. по: Прокофьева-Бельговская, 1986). Хромоцентр — это внутриядерная структура, образованная в результате ассоциации прицентромерных гетерохроматических районов всех или отдельных групп хромосом. Единый хромоцентр образуется не во всех ядрах. Примерно 25% ооцитов имеют два хромоцентра и около 5% — три (Carpenter, 1979). Эта структура наблюдается в интерфазе и мейотической профазе I у большинства видов дрозофил, у дрожжей, растений, земноводных, млекопитающих и насекомых (Монахова, 1973; Прокофьева-Бельговская, 1986; Funabiki et al., 1993 и др.).

Кроме мейотического спаривания гомологов, у многих насекомых и двукрылых, в частности, наблюдается митотическое или соматическое спаривание гомологичных хромосом (Kaufman, 1934; Прокофьева-Бельговская, 1986). Ассоциация прицентромерных гетерохроматиновых районов обнаружена также в интерфазе и профазе клеток нервных ганглиев личинок дрозофилы (Halfer, Varigozzi, 1973; Прокофьева-Бельговская, 1986). Хромоцентр в митозе существует вплоть до метафазы, а центромерные районы негомологичных хромосом связаны хроматиновыми нитями (Семенов, Смирнов, 1979). Гигантские политенные хромосомы слюнных желез дрозофилы также объединены в хромоцентр (Painter, 1933, цит. по Прокофьевой-Бельговской, 1986).

Исследования В.Л. Чубыкина (1995, 2001, 2009) помогли создать детальную картину формирования хромоцентра в профазе I мейоза у дрозофилы. Структура хромоцентра генетически детерминирована. В  $G_2$ -фазе премейотического клеточного цикла образуются две группы хромосом, ассоциированных в прицентромерных районах, а позже происходит объединение всех хромосом в хромоцентре. Они расположены в определенном порядке: X-2L-2R-3L-3R-4 (рис. 11.4). В мейозе хромоцентр имеет двукольцевую структуру, сформированную связями гетерозктопической природы, которые образуются между негомологами в асиноптированных прицентромерных районах бивалентов. Поэтапный синاپсис гомологов в профазе I мейоза инициируется до или одновременно с формированием хромоцентра. После синапсиса эухроматиновых районов следует второй этап — спаривание гетерохроматина. Сформированный хромоцентр выявляется на стадиях  $S_3$ - $S_4$  развития ооцита. В прицентромерной области формируются связи, координирующие гомологичные хромосомы к разным полюсам первого деления мейоза (рис. 11.4, а). Нарушение этих связей (например, вследствие структурных или локусных мутаций) компенсируется наличием хиазм между гомологами в прицентромерном районе или сохраняющимися до прометафазы хромоцентральными связями между негомологами. В последнем случае наблюдается «межхромосомный эффект» на расхождение хромосом (негомологи расходятся не независимо).

В прометафазе I мейоза происходит активация одного из кинетохоров в составе бивалента и прикрепление к нему стабильных нитей веретена (рис. 11.4, б). После этого происходит деградация хромоцентральных связей между негомологами и координирующих связей между гомологами. Затем гомологичные хромосомы расходятся к противоположным полюсам.

В отличие от мейоза, в митотических клетках формирование хромоцентра начинается уже в интерфазе и завершается в профазе митоза. Особенность хромоцентра заключается в отсутствии связей между прицентромерными районами гомологов,



**Рис. 11.4.** Схема реорганизации хромоцентра в прометафазе I (кариосоме) мейоза самок. *а* — двойное кольцо хромоцентра создает условия для коориентации гомологов в отсутствие прицентромерного синапсиса; *б* — замена хромоцентральных связей на гомологичные в прицентромерных гетерохроматиновых районах. Стрелки указывают направление движения хромосом в анафазе I. По: Чубыкин, 2009 с изменениями.

их десинапсисе и деградации связей между негомологами до образования и стабилизации веретена деления. Эти условия необходимы для активации всех кинетохоров сестринских хроматид (Чубыкин, 1995, 2001, 2009).

## Особенности делений мейоза у дрозофилы

**Особенности делений мейоза в оогенезе.** Общей чертой женского мейоза у некоторых организмов является отсутствие centrosом и centrioles, хотя при этом формируется биполярное веретено. У дрозофилы  $\gamma$ -тубулин, являющийся centrosомным компонентом, не концентрируется на полюсах деления, но при этом он необходим для мейоза. Формирование веретена деления в метафазе I начинается не с полюсов, а с «прорастания» микротрубочек от хромосом к полюсам. Каждая хромосома формирует свое биполярное мини-веретено (McKim et al., 2002). Для формирования веретена необходимы белки NCD, NOD, SUB, MSPS, D-TACC, ASP.

Белок NOD размером 666 а.к. кодируется геном *nod*, *no distributive disjunction* (он же *Kif 22*, 1-36; 10C7-8), его партнер — NCD — имеет размер 700 а.к. и кодируется геном *ncd*, *non-claret disjunctional* (ранее — *ca<sup>nd</sup>*, *claret nondisjunctional*, 3-99; 99C1) (FlyBase). Оба белка принадлежат к суперсемейству тяжелой цепи кинезина (кинезины включены в транспорт органелл, белковых комплексов, мРНК, в движение веретена и хромосом (FlyBase)). Белок SUB длиной 628 а.к. является продуктом гена *sub*, *subito* (ранее известного как *Dub*, *Double or nothing* (Moore et al., 1994)); координаты гена — 2-84; 54E7 (FlyBase). Белок — гомолог кинезина-6 — связывается с антипараллельными микротрубочками. MSPS имеет несколько изоформ длиной от 2042 до 2082 а.к., кодируется геном *mpps*, *mini spindles* (3-58;

89B1-2). Этот белок связывается с тубулином микротрубочек благодаря нескольким функциональным доменам (HEAT, TOG и др.). Еще один компонент веретена — D-TACC — является продуктом гена *Dmel\tacc*, *transforming acidic coiled-coil protein* (3-47; 82D2), и имеет длину от 245 до 1322 а.к. (насчитывает 13 изоформ). Связывается с микротрубочками веретена (FlyBase). Наконец, белок ASP имеет размер 1954 а.к. и является продуктом гена *asp*, *abnormal spindle* (3-85; 96A19-20). Связывается с легкой цепью миозина (FlyBase).

До оплодотворения яйцо дрозофилы «застывает» (подвергается «аресту») на стадии метафазы I. Этот момент является «контрольным пунктом» мейоза. Если хиазмы между гомологичными хромосомами отсутствуют, ооциты раньше времени входят в анафазу I и проходят оба деления мейоза на стадии  $S_{14}$  (McKim et al., 2002). Нормальный выход ооцита из метафазы I и переход к анафазе I происходит при участии специфических белков. Одним из основных является  $Ca(2+)/Calmodulin$ -зависимая фосфатаза кальцинеурин. Для ее активации и завершения анафазы необходим белок Sarah, который, в свою очередь, должен быть фосфорилирован с помощью Shaggy/GSK-3 $\beta$  (*glycogen synthase kinase*) (Takeo et al., 2012).

Расскажем немного об этих белках. Кальцинеурин состоит из двух компонентов — А и В. Первый обладает каталитической активностью (металло-зависимая фосфатаза), второй обеспечивает чувствительность к кальцию. Кальцинеурин А1 имеет три изоформы размером от 596 до 622 а.к. и кодируется геном *Calcineurin A1* (3-102; 100B1). Имеется также белок кальцинеурин А1 на 14F, его ген расположен в секции 14E3-14F1 первой хромосомы (генетические координаты 1-54). Белок имеет размер 584 а.к. Кальцинеурин В — небольшой белок длиной 170 а.к., имеющий сайт связывания кальция; ген расположен на первой хромосоме (1-11; 4F5). Наконец, кальцинеурин В2, по длине и по свойствам идентичный предыдущему, кодируется геном на второй хромосоме (2-57; 43E16). Активатор кальцинеурина — белок Sarah длиной 292 а.к. — имеет домен, узнающий РНК. Кодируется геном *sarah* (3-58; 89B7-89B12). Фосфорилируется белок Sarah с помощью гликоген-синтаз-киназы Shaggy/GSK-3 $\beta$ . Белок кодируется геном *shaggy* (1-1; 3A8-3B1) и имеет около 20 изоформ размерами от 416 до 1168 а.к. (FlyBase).

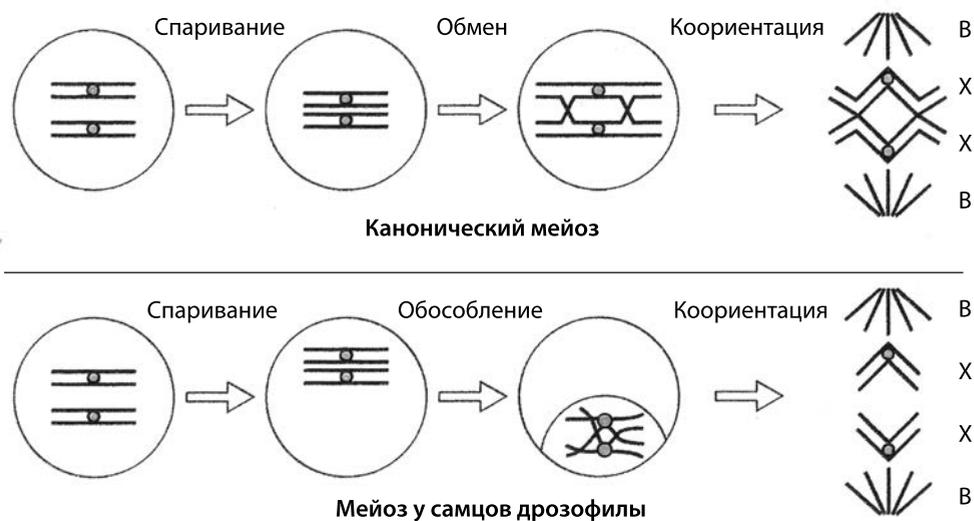
**Мейоз у самцов дрозофилы.** Для мейоза у самцов дрозофилы характерно отсутствие синаптонемных комплексов и кроссинговера, вследствие чего происходит некоторое «упрощение» мейоза, выполняющего только сегрегационную функцию (Carotti, 1973).

У самок дрозофилы существуют особые механизмы для сегрегации необменных (ахиазматических) хромосом: один использует гомологию участков гетерохроматина, другой — сходство хромосом по размеру и форме (Hawley et al., 1992). Однако в мейозе у самцов *Drosophila melanogaster* не используются механизмы, действующие в мейозе у самок. Мутации генов, затрагивающих сегрегацию необменных хромосом у самок, как правило, не действуют на хромосомную сегрегацию у самцов.

Цитологическое исследование мейоза у самцов дрозофилы показало, что гомологичные хромосомы спарены на стадиях от прометафазы I до начала анафазы I (Vazquez et al., 2002). Аутосомы лежат параллельно, тогда как половые хромосомы контактируют в дискретных сайтах. Возможно даже, что гомологичные хромосомы спарены во время стадии  $G_1$  и остаются спаренными в течение S-фазы. В молодых сперматоцитах (стадии  $G_1$ – $G_2$ ) наблюдали также многочисленные контакты гетерохроматических районов негомологичных хромосом — хромоцентры (Vazquez et al., 2002).

Еще в 1964 г. Купер, исследуя поведение половых хромосом в профазе I мейоза у самцов дрозофилы, обнаружил некоторые закономерности этого процесса. Так, Y-хромосома всегда конъюгировала с гетерохроматической частью X-хромосомы, но никогда — с эухроматической. В свою очередь, участки гетерохроматической части X-хромосомы конъюгировали как с коротким плечом Y-хромосомы (чаще), так и с длинным. Длина конъюгирующего фрагмента всегда была очень маленькой. Купер предложил термин «коллохоры» для обозначения таких районов половых хромосом. Позже было показано, что сайты спаривания X- и Y-хромосом лежат внутри области повторов рДНК.

Более современные исследования позволили понять последовательность событий в мейозе у самцов дрозофилы (рис. 11.5). Эухроматические районы гомологичных хромосом спарены в сперматогониях и на ранних стадиях развития сперматозитов. Затем происходит интенсивное разделение гомологов и сестринских хроматид вдоль плеч хромосом. Это наблюдается в середине стадии  $G_2$ , за несколько часов до первого мейотического деления (Vazquez et al., 2002). Центромеры гомологичных хромосом спариваются специфично в середине стадии  $G_2$ . Но к концу этой стадии их контакт теряется (центромеры сестринских хроматид остаются в тесной ассоциации). Таким образом, взаимодействие эухроматических районов аутосом в сперматозитах необходимо для инициации, но не для поддержания мейотического спаривания у самцов дрозофилы. Авторы исследования предположили, что необходимо участие гетерохроматических районов или какое-то сплетение хроматид для



**Рис. 11.5.** Сравнение мейоза у самцов дрозофилы с каноническим мейозом

Показаны основные этапы мейоза — спаривание гомологов, обмен (кроссинговер), коорентация хромосом на экваторе еретена в МI, обособление хромосомных территорий. В — микротрубочки веретена, X — гомологичные хромосомы на экваторе веретена деления (по Hawley, 2002, с изменениями).

поддержания ассоциации гомологов в поздней фазе  $G_2$ . Возможно также, что формирование хромосомных территорий в ядре сперматоцита может играть активную роль в обеспечении специфичности мейотического спаривания в поздней профазе I мейоза, разрывая взаимодействие негомологичных хромосом (Vazquez et al., 2002).

Какими бы ни были ассоциации гомологичных хромосом у самцов дрозофилы, их достаточно, чтобы вместо хиазм уравновесить силы, тянущие хромосомы к полюсам в анафазе I-го деления мейоза. При этом в расхождении аутосом и половых хромосом участвуют разные белковые комплексы (Arga et al., 2006).

Во время профазы I мейоза в ядрах первичных сперматоцитов наблюдается скопление электронно-плотных нитевидных структур, названных Расмуссеном предшественниками центральных элементов синаптонемного комплекса. Эти структуры имеют диаметр 18 нм и расположены в менее плотном матриксе с шириной пространства 90 нм. По мере развития кластера сперматоцитов структуры приобретают поперечную исчерченность и становятся более четкими. Аналогичные структуры Расмуссен наблюдал между конъюгирующими гомологами в мейозе у самок до образования типичного СК (Rasmussen, 1974). Это наблюдение, впрочем, было подвергнуто сомнению. Карпенгер высказала предположение, что наблюдавшиеся Расмуссеном у самок «предшественники» центрального элемента СК являются либо нормальным эухроматиновым СК в сагиттальном разрезе, либо центральным элементом гетерохроматинового СК, либо «продуктом цитохимической обработки» (Carpenter, 1975a).

В прометафазе I хромосомы мигрируют от периферии ядра к его центру и быстро конденсируются. Сестринские хроматиды на этой стадии лежат не так близко друг к другу, как на ранней стадии  $G_2$ , но остаются тесно связанными даже в теломерных районах. Так же тесно связаны и гомологичные аутосомы (Vazquez et al., 2002).

В прометафазе I биваленты претерпевают сложные движения, включающие кратковременную биполярную ориентацию, одновременную реориентацию гомологичных кинетохоров, а также движения вдоль ядерной мембраны и движения, не параллельные оси веретена деления. Предполагается, что все эти движения обусловлены кинетохорными микротрубочками (Church, Lin, 1985).

## Заключение

Основные отличия мейоза у дрозофилы от мейоза у других организмов перечислены в водной части нашей статьи. Среди них наиболее важным и необычным является отсутствие у самцов кроссинговера — признака, обязательного для классического мейоза. Даже у дрожжей *Schizosaccharomyces pombe*, не имеющих синаптонемных комплексов, существуют мейотическая рекомбинация и кроссинговер (Lorenz et al., 2006). Именно это принципиальное отличие мейоза у самцов дрозофилы заслуживает специального обсуждения. Особенно это интересно потому, что синаптонемных комплексов нет только у самцов дрозофилы и что именно самцы имеют бескроссовый мейоз, то есть мейоз более примитивный, чем у делящихся дрожжей.

У всех эукариот, у которых изучен набор специфичных для мейоза белков, ферментов и медиаторов мейотической рекомбинации, эта рекомбинация начина-

ся с программируемого формирования множества двухцепочечных разрывов ДНК с помощью мейоз-специфичных эндонуклеаз. После этого происходит взаимное узнавание локусов гомологичных хромосом с помощью одноцепочечных 3'-концов ДНК, покрытых белками Rad51 или Dmc1 (Page, Hawley, 2004), и начинается формирование промежуточных структур рекомбинации — структур Холлидея. Однако известны два организма, у которых эта консервативная последовательность событий инвертирована в самом начале: это нематода *C. elegans* и *Drosophila*. У обоих организмов сначала формируются синаптонемные комплексы, и только потом на их белковых ультраструктурных элементах фиксируются эндонуклеазы, которые разрезают двухцепочечную ДНК и инициируют рекомбинацию. Так происходят события у обоих полов нематоды и у самок дрозофилы. А у самцов дрозофилы синаптонемных комплексов не бывает и, соответственно, нет внутриядерных ультраструктурных компартментов для функционирования эндонуклеаз и начала цепочки процессов, приводящих к кроссинговеру. Нить процессов рекомбинации оборвана в самом начале. Но почему именно у самцов нет синаптонемных комплексов? Уже давно было установлено, что формирование пола у дрозофилы подчиняется так называемому генному балансу, то есть отношению количества X-хромосом к количеству наборов аутосом (Bridges, 1925).

Причины отсутствия СК у самцов дрозофилы были изучены нами в серии экспериментов с электронно-микроскопическим исследованием семенников дрозофил, в ходе которого мы пристально искали признаки СК в сперматоцитах I порядка самцов и интерсексов дрозофилы с различными перестройками генома (Гришаева, Богданов 1986; Grishaeva, Bogdanov, 1988). Было установлено, что X-хромосома *Drosophila melanogaster* содержит гены, влияющие на формирование СК, а в семенниках во время мейоза (в отличие от политенных хромосом слюнных желез) не существует компенсации дозы генов. Генотипы с наборами хромосом XY+2A; X0+2A, а также XY+2A с дупликациями секций 1-3A и 18A-20 X-хромосомы, будучи самцами, не способны формировать синаптонемные комплексы. Самцы с дупликациями секций 8C-11A нежизнеспособны, самки с такой же дупликацией имеют нарушения в формировании СК, у самок с делецией этого района нарушены жизнеспособность и дифференцировка клеток яичника. Нами был сделан вывод о том, что за формирование пола у дрозофилы и за формирование СК отвечают гены, локализованные в секциях 8C-11A X-хромосомы (Гришаева, Богданов, 1986; Grishaeva, Bogdanov, 1988). В этом районе располагается один из генов-номераторов (*sis-A*), которые передают сигнал о соотношении хромосом по цепочке генов, контролирующей формирование пола у дрозофилы (Cline, Meyer, 1996; FlyBase). Мы предполагаем, что одной дозы генов, локализованных в секциях 8C-11A X-хромосомы, недостаточно для формирования СК. Но, в отличие от других эукариот, синаптонемный комплекс необходим дрозофиле (так же, как нематоды *C. elegans*) для создания внутриядерных (внутриклеточных) условий, помогающих локализовать и накапливать ферменты, инициирующие двухцепочечные разрывы ДНК. Из-за отсутствия синаптонемных комплексов и двухцепочечных разрывов ДНК у самцов блокируется весь каскад метаболических процессов, приводящих к рекомбинации ДНК и кроссинговеру.

## Глава 12.

# Ахиазматический мейоз у самок тутового шелкопряда *Bombyx mori* и особенности мейоза у его полиплоидов

Мейоз у самок шелкопряда *Bombyx mori* облигатно-ахиазматичен и лишён кроссинговера. Биваленты хромосом удерживаются на экваторе веретена в метафазе I с помощью модифицированных синаптонемных комплексов (СК), сохраняющихся до этой поздней стадии. Массивные тела модифицированных СК изолируют одну гомологичную хромосому от другой и позволяют каждому гомологу соединяться только с одним полюсом веретена. Это явление вынуждает гомологичные хромосомы бабочек координироваться на экваторе веретена деления, как в классическом мейозе, и затем обеим сестринским хроматидам отходить к одному полюсу в анафазе I.

У самцов *B. mori* во время мейоза развитие и деградация СК подчиняются каноническим правилам. Во время диплотены формируются хиазмы. Хромосомы теряют полицентричность, которой обладали во время митоза, превращаются в моноцентрические, координируются на экваторе веретена в метафазе I так же, как моноцентрические в обыкновенном мейозе, и в анафазе I расходятся редуccionно.

Биология и генетика тутового шелкопряда подверглись весьма детальному изучению в XX веке в связи с ценностью этого животного как производителя натурального шёлка (Астауров, 1940, 1977; Tadzima, 1978). Полиплоиды шелкопряда были получены в СССР Б.Л. Астауровым и его сотрудниками путем блокирования первого деления мейоза высокой температурой (1968), а детальное исследование хода мейоза у зуплоидов и полиплоидов шелкопряда выполнено в 1970–80-е гг. в Дании (Rasmussen, 1976, 1977a, b; Rasmussen, Holm, 1982).

Диплоиды *Bombyx mori* имеют  $2n=56$  хромосом, триплоиды —  $3n=84$  и тетраплоиды —  $4n=112$  хромосом. У шелкопряда, как и у других бабочек, мужской пол является гомогаметным (половые хромосомы ZZ), а женский — гетерогаметным (половые хромосомы ZW). Z-хромосома обогащена генами, специфически транскрибируемыми в семенниках (Arunkumar et al., 2009).

Мейоз у самцов и самок начинается на личиночной стадии онтогенеза — у гусениц 3-го возраста. У самцов I и II деления мейоза происходят на стадии гусениц последнего 5-го возраста, и из коконов вылупляются половозрелые самцы. У самок мейоз останавливается на стадии метафазы I во время развития куколки. Анафаза I и мейоз II совершаются после оплодотворения вылетевших бабочек. Оплодотворенные яйца откладываются в виде грены.

## Мейоз у диплоидов. Профаза I

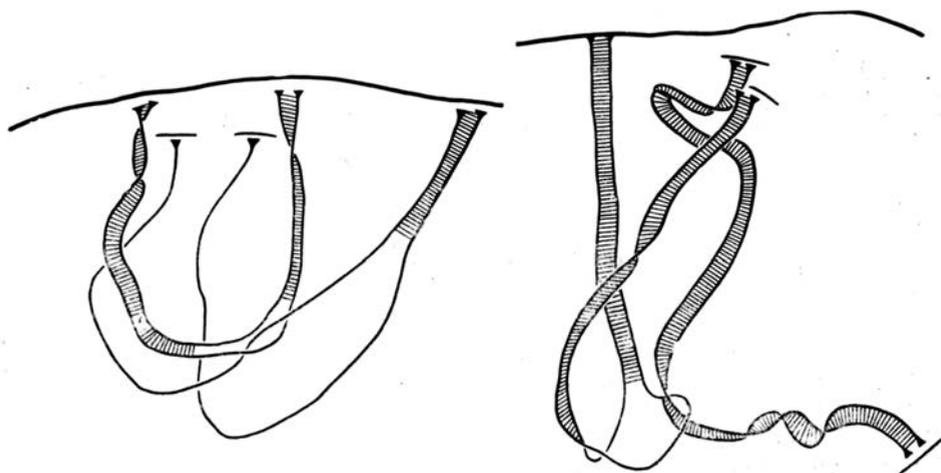
Длинные парные семенники гусениц 4-го возраста заполнены цистами, содержащими каждая несколько десятков сперматоцитов 1-го порядка. Внутри одной цисты сперматоциты развиваются синхронно, то есть в каждый момент времени оказываются на одинаковой субстадии профазы I. Проксимальные отделы семенника (расположенные ближе к его верхушке) содержат сперматоциты на ранних субстадиях профазы I, а дистальные отделы — более поздние субстадии профазы I. Яичники заполнены восьмиклеточными цистами. Только одна из этих клеток становится ооцитом первого порядка. Остальные превращаются в клетки-кормильцы (трофоциты) (см. гл. 6. рис. 6.1).

Хромосомы шелкопряда в профазе I мейоза практически не имеют цитологических маркёров, кроме двух пар наиболее длинных хромосом, одна из которых несет узелки конденсированного хроматина (вероятно, гетерохроматиновой природы), вторая пара — ядрышковый организатор. Остальные 26 пар мейотических профазных хромосом, при необходимости их кариотипирования, могут быть ранжированы по длине. Z-хромосома (выделяемая лишь условно по косвенным признакам) является, вероятно, третьей по длине в кариотипе и одинакова у самцов и самок. Длина гаплоидного набора осевых элементов хромосом во время ранней зиготены составляет 196–198 мкм (Rasmussen, Holm, 1982).

Цитологические картины мейоза в сперматоцитах и ооцитах первого порядка одинаковы до стадии пахитены. Все 56 хромосом формируют фигуру «букета» во время лептотены и зиготены. Синапсис начинается с концов хромосом и сопровождается появлением многочисленных ранних рекомбинационных узелков на СК.

Многочисленность хромосом у *B. mori* позволяет обратить внимание на особенность формирования СК во время зиготены — на взаимный захват (интерлокинг) СК во время постепенного формирования многочисленных СК в ходе зиготены. Это явление спорадически встречается в профазе I в мейоцитах практически у всех организмов, но чем больше хромосом в кариотипе, тем выше для наблюдателя вероятность встретить явление интерлокинга. У шелкопряда, в среднем, на одно ядро сперматоцита наблюдается 1,6 явления интерлокинга (захвата) одиночного осевого элемента другим СК и 2,4 захвата целого СК другим синаптонемным комплексом. Кроме того, наблюдаются разрывы как одиночных осевых и латеральных элементов СК, так и целых СК (рис. 12.1). Однако ко времени наступления пахитены захваты и разрывы латеральных элементов исчезают. На основании этого делалось разумное предположение, что освобождение от интерлокингов может происходить путем разрыва и воссоединения разорванных концов латеральных элементов. Это легко представить себе, если второй латеральный элемент (гомологичной хромосомы) в СК оставался целым и служил «направляющей» для правильного сопоставления разорванных концов.

Однако число интерлокингов целого СК превышает число разрывов целого СК, и возможно, что не все интерлокинги целого СК ликвидируются путем разрыва и воссоединения латеральных элементов (Rasmussen, Holm, 1982). Загадка, каким образом СК освобождается от взаимных захватов — интерлокингов, — остается нерешенной (Zickler, Kleckner, 2015).



**Рис. 12.1.** Интерлокинг (захват) одним пахитенным бивалентом другого у тутового шелкопряда.

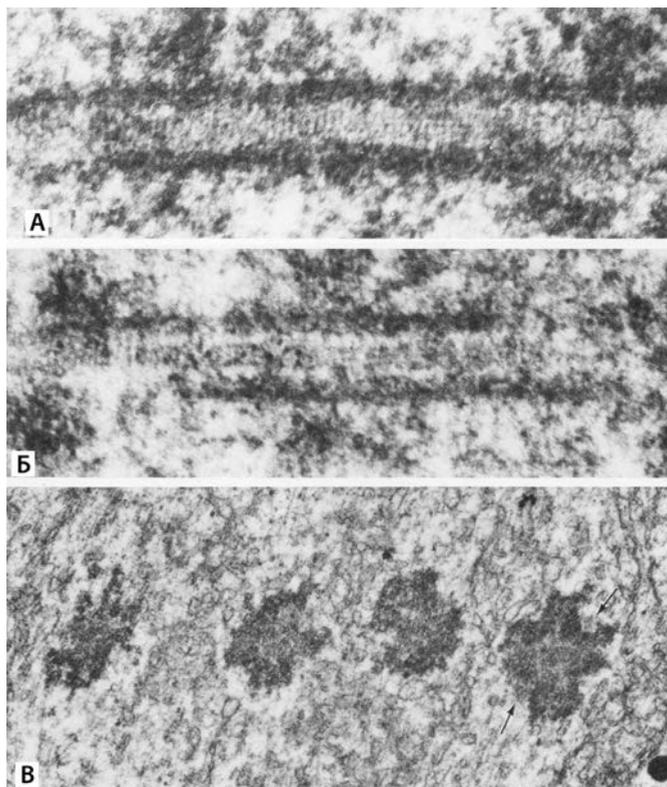
Зарисовка результатов реконструкции СК на основе серии ультратонких срезов (по Расмуссену и Хольму, 1981 с изменениями). Предполагается, что СК освобождаются от интерлокинга с помощью разрывов их латеральных элементов.

**Пахитена у самцов и самок.** Началом пахитены у всех организмов, включая шелкопряда, считается построение СК по длине всех бивалентов и распад фигуры «букета» хромосом. Теломеры хромосом раздвигаются по всей внутренней поверхности ядерной оболочки. В это время на 3D-реконструкциях ультратонких срезов сперматоцитов и ооцитов *B. mori* не наблюдается никаких интерлокингов. Центральное пространство между латеральными элементами СК у *B. mori* имеет «лестничную» структуру: поперечные филаменты пересекают его от одного латерального элемента до другого, не встречая на своём пути никаких центральных элементов. До субстадии средней пахитены не наблюдалось различий в ультраструктуре СК у самцов и самок за одним исключением: СК в сперматоцитах имеет ширину 100–120 нм (King, Akai, 1971), в то время как в ооцитах ширина центрального пространства составляет 70–80 нм (Rasmussen, 1976). Это различие исследователи склонны связывать с отсутствием кроссинговера у самок *B. mori* (Rasmussen, Holm, 1982). Однако это не единственное различие в структуре СК у обладающих кроссинговером и хиазмами самцов и бескроссоверных, ахиазматических самок.

Во время средней пахитены у самцов наблюдаются локальные участки продольного расщепления латеральных элементов СК на две структуры, как бы соответствующие сестринским хроматидам. Чаще такие явления наблюдаются на теломерных концах СК. У самок такого явления на этой субстадии профазы не наблюдалось. Однако существенные различия в структуре СК у самцов и самок возникают в конце субстадии пахитены, при переходе к диплотене. СК самок претерпевают сильные морфологические изменения.

**Период пахитены – метафазы I у самок.** Развитие ооцита шелкопряда в период так называемого среднего роста (см. гл. 6) происходит во время прохождения самкой стадии ранней куколки. Пахитена протекает в первой трети жизни куколки (Rasmussen, 1977a).

Как указывалось в гл. 6, у самок шелкопряда ооцитом становится только одна клетка из восьми клеток — потомков одного оогония (рис. 6.1). СК образуются и в соседних с будущим ооцитом клетках, и эти клетки вступают в раннюю пахитену. Это лишь на одно клеточное деление отличается от оогенеза в гермариуме яичников дрозофилы (гл. 11), когда в составе 16-клеточного кластера, помимо истинного ооцита, формируется второй «про-ооцит», не становящийся истинным ооцитом. Что касается шелкопряда, то исследователи не уточнили, существует ли в 8-клеточном кластере один или больше таких про-ооцитов (Rasmussen, Holm, 1982). Сообщалось только, что в клетках 8-клеточного кластера, становящихся клетками-кормильцами ооцита, образуются СК, но в то время, когда ооцит переходит из па-



**Рис. 12.2.** Ультраструктура бивалентов хромосом и синаптонемных комплексов в сперматоцитах шелкопряда *Bombyx mori*. А — средняя пахитена. Б — поздняя пахитена. В — метафаза I, увеличение  $\times 100\,000$  для А и Б, и  $\times 12\,500$  для В (из von Wettstein, 1984 с изменениями).

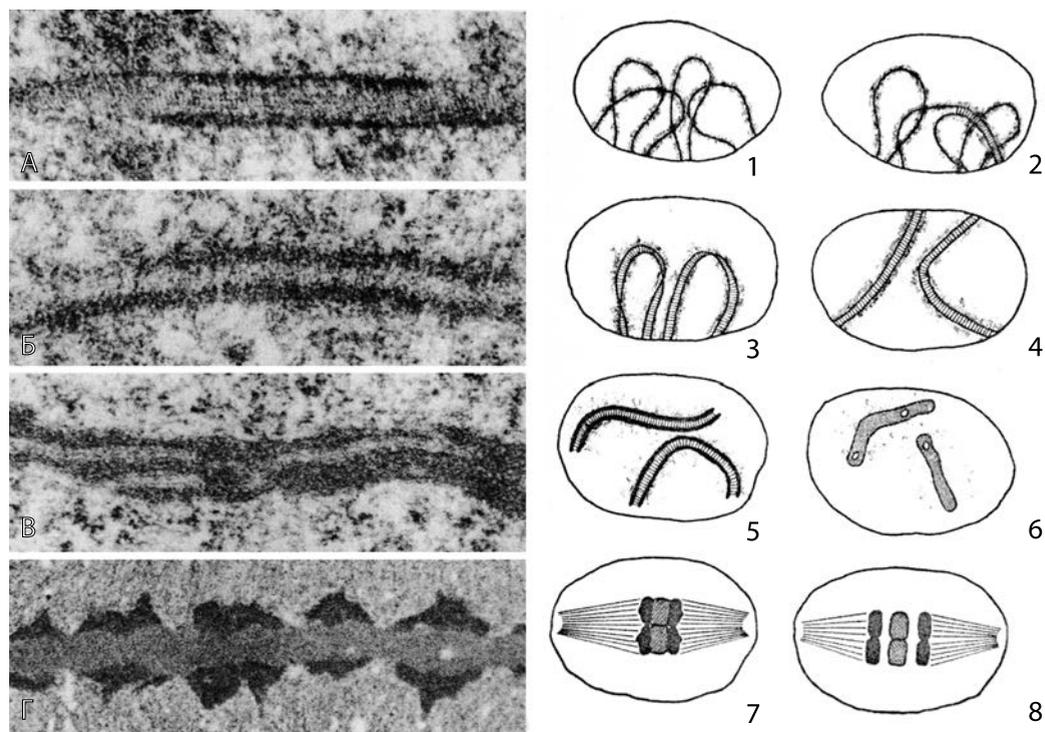
хитены в диплотену, все СК в клетках-кормильцах отделяются от хроматина, собираются в конгломераты, иногда напоминающие СК-поликомплексы (см. гл. 14), и деградируют.

**В ооците** шелкопряда на стадии средней пахитены СК неотличимы по ультраструктуре от СК самцов (рис. 12.2А и 12.3А), но в поздней пахитене начинаются существенные изменения (в англоязычной литературе для описания таких событий любят применять выражение «драматические изменения»). Латеральные элементы сначала сильно утолщаются (рис. 12.3Б), затем сливаются с материалом центрального пространства СК, заполняя его сплошной гомогенной массой (рис. 12.3В). Хроматин гомологичных хромосом вместо структурированного СК оказывается разделенным (и одновременно — соединенным) однородной «палочковидной» массой (рис. 12.3Г).

**Стадии диплотены в ооцитах шелкопряда нет, ибо нет хиазм.** Есть только палочковидные биваленты с тесно соединенными по всей их длине гомологичными хромосомами. Такие биваленты иногда соединяются концами по два-три бивалента в одну «палочку». При этом они утолщены и сокращены в длине. Эта стадия заменяет канонический диакинез. Авторы этих работ для образности сравнивают такие биваленты с колбасками (Rasmussen, 1977a; Rasmussen, Holm, 1982). Этот период развития ооцита — стадия «большого роста» — протекает в последний день развития куколки.

После превращения центральной зоны СК в гомогенную массу (стадия однородных палочек или «колбасок») биваленты выстраиваются на экваторе веретена метафазы I, при этом они оказываются соединены концами в одну «палочку», точнее, в тонкую пластину на экваторе веретена (рис. 12.3Г). В таком состоянии наступает пауза в ходе мейоза ооцита, которая прекращается только после оплодотворения (см. гл. 6).

**Диплотена у самцов.** В сперматоцитах переход к диплотене сопровождается деконденсацией хроматина и постепенным исчезновением СК. В ядрах сперматоцитов сохраняются только рекомбинационные узелки (РУ), часто с примыкающими к ним с двух сторон короткими (остаточными) фрагментами латеральных элементов СК — остатками пахитенных СК. Форма РУ меняется: в диплотене РУ удлиняются и становятся более массивными (хотя все эти преобразования изменяют размеры РУ на единицы нанометров). Кроме РУ, локализованных в пределах центрального пространства СК, появляются уплотненные участки хроматина вблизи СК, с которыми РУ сливаются. Они были названы «хроматиновыми узелками» (Rasmussen, Holm, 1982). На электронно-микроскопических фотографиях диплотенных сперматоцитов почти все РУ приобретают такой вид. Динамика этих изменений в цифрах такова: в конце зиготены наблюдается 103 РУ на ядро сперматоцита, а на протяжении пахитены это число варьирует от 55 до 71 (при числе бивалентов, равном 28). Коль скоро РУ является компартментом хиазмы (гл. 3), приводимые количества РУ означают, что статистически каждый бивалент обеспечен одним-двумя РУ и, соответственно, не менее чем одной хиазмой, что и требуется для успешной сегрегации всех пар гомологичных хромосом в анафазе I у самцов. По личному сообщению П.Б. Хольма (1979), число рекомбинационных узелков с остаточными элементами СК на стадии диплотены-диакинеза в сперматоцитах *Bombyx mori* статистически совпадает с числом хиазм у самцов.



**Рис. 12.3.** Ультраструктура бивалентов хромосом и синаптонемных комплексов (СК) в ооцитах шелкопряда *Bombyx mori*. Справа — рисунок С.В. Расмуссена, которым он поясняет, как преобразуются синаптонемные комплексы и хромосомы в ахиазматическом мейозе у самок шелкопряда и как расходятся гомологичные хромосомы в анафазе первого деления такого мейоза.

А — средняя пахитена. Б — поздняя пахитена. В — стадия, которая начинается после пахитены и заменяет диплотену; СК сохраняется, но его центральное пространство заполняется гомогенным материалом. Г — метафаза I. Увеличение  $\times 100\,000$  (А, Б и В),  $\times 12\,500$  (Г) (по Rasmussen, 1977a с изменениями).

Во время выполнения этих исследований, к сожалению, не был развит иммунофлуоресцентный метод выявления ферментов рекомбинации RAD51 и MLH1 в клеточных ядрах *in situ*. Этот метод вошел в практику начиная с 90-х годов XX века (см. гл. 2–4). Высокопрофессиональные исследователи мейоза у шелкопряда S.W. Rasmussen и P.B. Holm, работавшие в Карлсбергской лаборатории (Копенгаген) у профессора Д. фон Веттштайна при концерне Carlsberg, в 80-е годы вынуждены были прекратить работу с шелкопрядом и переключиться на биотехнологические исследования ячменя. С тех пор в литературе не встречалось логического продолжения исследований мейоза у шелкопряда с использованием метода выявления ферментов и других белков рекомбинации. Расмуссен и Хольм оста-

новились на констатации факта отсутствия РУ на СК у самок шелкопряда и определении количества РУ у самцов, которое совпадало с числом хиазм у этого пола.

В сперматоцитах хроматин временно деконденсируется во время диплотены и снова конденсируется во время диакинеза.

Под электронным микроскопом при переходе сперматоцитов от пахитены через диплотену к диакинезу наблюдались перемещения центриолей и изменения их морфологии — дополнительные маркеры упомянутых субстадий профазы I у шелкопряда. В средней пахитене две пары центриолей соприкасались с наружной поверхностью ядерной оболочки; в средней диплотене центриолы отделялись от этой оболочки и расходились в разные стороны, оставляя на покинутом месте инвагинацию ядерной оболочки, а во время диакинеза и в метафазе I занимали диаметрально противоположные позиции, маркируя полюса веретена деления (Holm, Rasmussen, 1980).

## Метафаза I и анафаза I у самцов

Полицентрический характер хромосом у *Bombyx mori*, как и у всех бабочек, создает особые условия (или требования) для расхождения сестринских хроматид во время митоза. В митозе хроматиды движутся к полюсам, располагаясь перпендикулярно оси веретена, как палочки, плывущие по течению, но расположенные поперёк вектора движения. Микротрубочки веретена прикреплены к каждой хроматиде в нескольких местах. Такая полилокальная организация центромер (и кинетохоров) должна создавать сложности при сегрегации гомологичных хромосом в мейозе. Однако в мейозе у самцов происходит «ремоделирование» центромер, возможно, близкое к тому, какое имеет место в хромосомах нематоды *C. elegans* (гл. 10). Детального исследования молекулярного механизма этого явления не было, но результаты ремоделирования известны. С помощью электронного микроскопа в метафазе I у самцов в каждом биваленте обнаружено только четыре кинетохора: по одному на каждой хроматиде (Rasmussen, Holm, 1982). Такая ультраструктура центромер соответствует каноническому строению кинетохоров в моноцентрических хромосомах. Авторы, обнаружившие это, цитируют также работы других исследователей, обнаруживших такую же структуру центромер в мейозе у тутового шелкопряда (Murakami, Imai, 1974; Maeda, 1980, цит. по: Rasmussen, Holm, 1982), а также и у некоторых Hemiptera — полужескокрылых насекомых, которые имеют в митозе полицентрические хромосомы (Hughes-Schrader, Schrader, 1961; Rasmussen, Holm, 1982).

## Первое деление мейоза и завершение мейоза у самок

В руководстве для селекционеров (Sakagushi, 1978) указывается, что оплодотворённые яйца тутового шелкопряда откладываются бабочкой «после отделения первого полярного тельца», то есть после завершения первого деления мейоза. Интервал времени между метафазой I и началом второго деления мейоза в услови-

ях нежаркой летней погоды составляет около 60 мин. Цитолог, детально исследовавший ультраструктуру ооцитов тутового шелкопряда, включая стадию метафазы I (S.W. Rasmussen), сообщил сотруднице Б.Л. Астаурова В.Н. Верейской, что после оплодотворения (в теле бабочки) и после откладки оплодотворенных яиц фазы мейоза I — метафаза I (уже после проникновения спермия), анафаза I и телофаза I — делятся «не более 10–20 мин каждая». Для исследования метафазы I он фиксировал отложенные яйца в течение первых 5 минут после их откладки бабочкой. В этих данных есть некоторые расхождения. Учитывая точность электронно-микроскопических картин, опубликованных Расмуссеном (Rasmussen, 1977), следует отдать предпочтение данным Расмуссена, а не Сакагуши.

Метафаза I, которая начинается в последний день трехдневной жизни куколки, заканчивается после оплодотворения вышедшей из куколки бабочки-имаго. Формирование единого комплекса бивалентов, соединенных концами в метафазе I, описано выше (раздел *Период пахитены – метафазы I у самок*).

В отличие от нематоды *C. elegans*, у бабочек *B. mori* и *Ephestia kuehniella* мейоз «избегает» инверсии порядка событий (см. гл. 13) благодаря другому механизму. Мейоз у самок шелкопряда — облигатно-ахиазматичен. Биваленты хромосом удерживаются на экваторе веретена в метафазе I с помощью модифицированных СК, сохраняющихся до этой поздней стадии (Rasmussen, 1977; Rasmussen, Holm, 1980; Расмуссен, Хольм, 1981). Кстати, то же самое наблюдается и у другого вида бабочек, *Ephestia kuehniella* (Traut, 1977). Массивные тела модифицированных СК изолируют одну гомологичную хромосому от другой и позволяют каждому гомологу соединяться только с одним полюсом веретена. Это явление вынуждает гомологичные хромосомы бабочек координироваться на экваторе веретена деления, как в классическом мейозе, и затем обеим сестринским хроматидам отходить к одному полюсу в анафазе I. У самок так же, как и у самцов, хромосомы в составе бивалентов в метафазе I выглядят под электронным микроскопом как моноцентрические (см. рис. 12.3Г).

Во время анафазы I в ооцитах моноцентрические хромосомы расходятся к полюсам, а на экваторе веретена деления остаются белковые тела, образовавшиеся из модифицированных СК (Rasmussen, 1977a). Такие белковые тела в анафазе I и телофазе I мейоза у шелкопряда и других бабочек наблюдались несколькими исследователями под световым микроскопом до публикации Расмуссена (см. Rasmussen, 1977a) и получили название «побочных ядер», которые, кстати, окрашивались цитохимическими методами как содержащие белок, и только после публикации Расмуссена стало ясно их происхождение как освобожденных от хроматина остатков видоизменившихся СК.

## Мейоз у полиплоидов

Полиплоиды (3n и 4n) тутового шелкопряда *B. mori* были получены Б.Л. Астауровым и В.Н. Верейской (Астауров, Верейская, 1960; Верейская, Астауров, 1962; Астауров, 1977) в виде побочного результата его многолетних трудов по созданию партеногенетических клонов домашнего тутового шелкопряда. Искусственный партеногенез у единичных особей тутового шелкопряда впервые был полу-

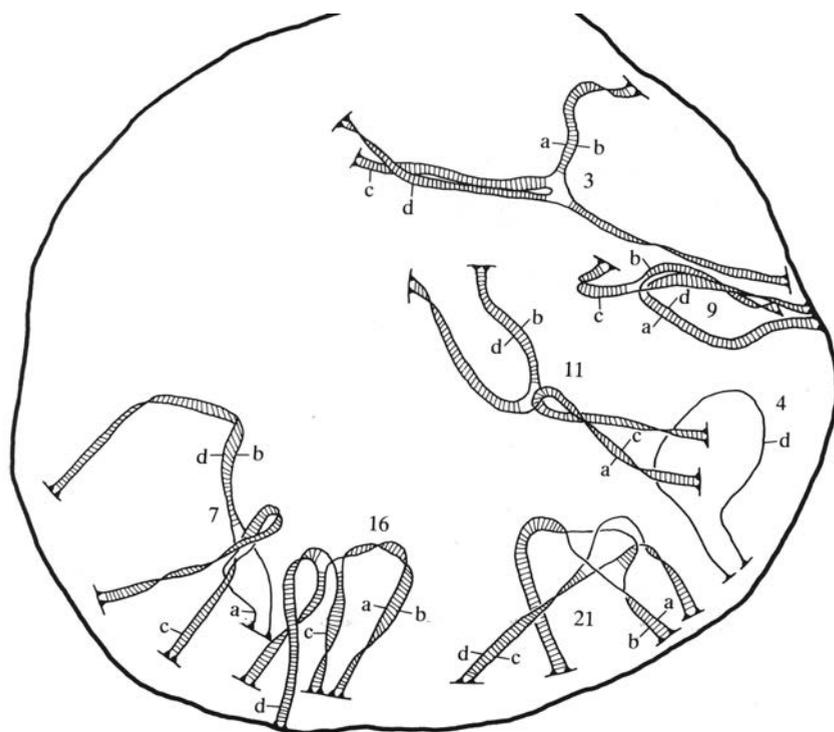
чен А.А. Тихомировым (1886). Но в его опытах партеногенетическое развитие не шло далее ранних стадий эмбриогенеза. В 30-х годах XX в. Н.К. Кольцов возобновил исследования по искусственному партеногенезу, применив для этой цели химические воздействия. Но только его ученику Б.Л. Астаурову в 1931–1933 гг. удалось разработать метод получения партеногенетических форм путем температурного воздействия на самок шелкопряда. В монографическом виде результаты были опубликованы позже (Астауров, 1940). Найденный простой и очень эффективный метод заключался в активации неоплодотворенных яиц путем их дозированной тепловой обработки: погружения (брюшка бабочки) на строго определенное время в воду с контролируемой температурой 46°C. Температура и время были подобраны в серии опытов, в которых определили зависимости эффекта от дозы и времени обработки. Была раскрыта цитологическая картина развития температурного партеногенеза, установлено, что тепловой шок индуцирует первое деление мейоза и сразу же денатурирует веретено этого редукционного деления. При своевременном прекращении температурной обработки остается не затронутым второе — эквационное — деление мейоза, и это обеспечивает диплоидность партеногенетического развития и тождество партеногенетических потомков (всегда самок) с их матерью. Исследования по партеногенезу стали первым звеном дальнейших работ, проводившихся в нескольких направлениях. Одним из них было получение полиплоидов шелкопряда и исследование мейоза у полиплоидов.

Как в природе, так и в экспериментах партеногенез очень часто сочетается с явлениями полиплоидии. Астауровым (1940) было показано, что крупные ооциты, встречающиеся у очень многих партеногенетических самок, тетраплоидны. Путем успешной термоактивации неоплодотворенных тетраплоидных яиц были получены тетраплоидные самки, способные как к партеногенетическому размножению, так и к размножению путем скрещивания. В первом случае получались ауотетраплоидные клоны. При скрещивании же тетраплоидных самок с диплоидными самцами были получены триплоидные особи обоих полов, абсолютно бесплодные как при скрещивании между собой, так и при скрещивании с нормальными диплоидными формами.

Однако в дальнейшем после проведения цитологического анализа оогенеза активированных тепловым воздействием ооцитов открылась возможность разведения даже этих бесплодных триплоидных самок, но не обычным обоуполым путем, а также путем температурного партеногенеза. В лаборатории Б.Л. Астаурова были получены многие тысячи триплоидных особей, всегда самок, а также триплоидные партеногенетические клоны. Среди полученных путем партеногенеза триплоидных самок, в отличие от их полностью бесплодных матерей, иногда обнаруживали самок с частичной плодовитостью при скрещивании их с диплоидными самцами.

Триплоидные и тетраплоидные самки, полученные Верейской в лаборатории Астаурова (Астауров, Верейская, 1960; Верейская, Астауров, 1962), были представлены С.В. Расмуссену для детального электронно-микроскопического исследования мейоза.

**Самки триплоидов.** При реконструкции синаптонемных комплексов на серийных срезах ооцитов триплоидной самки ( $3n=84$ ) Расмуссен (Rasmussen, 1977b) обнаружил, что во время зиготены и ранней пахитены большинство хромосом синап-



**Рис. 12.4.** Зарисовка трехмерной реконструкции синаптонемных комплексов из серии ультратонких срезов части ядра ооцита на стадии ранней пахитены у автотетраплоидной самки шелкопряда *B. mori*.

Номера хромосом указаны цифрами: 3, 7, 9, 11, 16, 21. Четыре гомолога каждой хромосомы обозначены латинскими буквами. Хромосома 4 в этой части ядра оказалась представлена унивалентом (по Расмуссену и Хольму с изменениями из: von Wettstain, 1984).

тирует попарно, но при этом третья гомологичная хромосома ложится параллельно СК и на отдельных участках вступает в синапсис конкурентно с одним из двух гомологов, образующих СК, и вытесняет «третьего лишнего». При переходе от зиготены к пахитене количество СК, обнаруженное Расмуссеном, равнялось 22, а в средней и поздней пахитене достигало 26–27 (из 28 возможных). Число тривалентов не превышало 6 (в поздней зиготене), а число унивалентов на стадиях поздней зиготены, ранней и средней пахитены в среднем на клетку составляло 22, 23,5 и 18,6, соответственно. Униваленты в средней зиготене часто синаптируют сами с собой, образуя гетерологичные СК. Среди СК-бивалентов также иногда наблюдается неравный синапсис, например, синапсис со сдвигом концов или другие варианты негомологичного синапсиса в пределах одного бивалента (Rasmussen, Holm, 1982). Эти авторы заключают, что у триплоидов можно формально выделить две фазы си-

написиса: сначала происходит гомологичный синапсис, а затем — гетерологичный. Они также заключают, что негомологичному синапсису у триплоидов способствует отсутствие кроссинговера у триплоидных самок.

**Коррекция синаписса хромосом у тетраплоидов.** У тетраплоидных самок, так же как у триплоидных, при переходе от зиготены к пахитене синапсис идет по правилам конкуренции и исключения третьего лишнего в каждом локусе спаривания (рис. 12.4).

При этом ко времени завершения динамического процесса спаривания (к началу пахитены) наблюдалось в среднем 8,4 тетравалента на ооцит, 2,0 унивалента и 0,7 тривалента (т.е., триваленты были не в каждом ооците). Остальные хромосомы формировали биваленты. Эти исследования были также проведены путем реконструкций СК на серийных ультратонких срезах ядер ооцитов тетраплоидных гусениц, полученных в лаборатории Б.Л. Астаурова.

## Глава 13.

# Инвертированный мейоз и его место в эволюции путей полового размножения

Инвертированный мейоз обнаружен у растений и насекомых с холоцентрическими хромосомами, у которых центромеры занимают 70–90% длины метафазных хромосом. В первом делении (мейоз I) формируются хиазмы, биваленты с концевыми хиазмами (палочковидные) ориентируются эквационно, и в анафазе I к полюсам расходятся сестринские хроматиды; диплоидное число хромосом сохраняется. Хиазмы формируются с помощью тяжелой хроматина, содержащих сателлитную ДНК. Несестринские хроматиды гомологичных хромосом сохраняют контакт в интеркинезе, в профазе II и метафазе II и расходятся в анафазе II, формируя гаплоидные наборы хромосом. Расхождение сестринских хроматид в мейозе I доказано на примере трех видов растений с гетерозиготными маркерами хромосом.

В профазе I мейоза материнских клеток пыльцы *Luzula elegans* и *Rhynchospora pubera* функционируют типичные для классического мейоза ферменты мейотической рекомбинации Spo11 и Rad51 и обнаружены синаптомемные комплексы и их типичные белки. У самцов кокцид и тлей описано несколько вариантов базового типа инвертированного мейоза. Методы молекулярной цитогенетики для анализа инвертированного мейоза у кокцид и тлей до сих пор не применялись.

Излагается гипотеза, объясняющая молекулярную защиту центромер сестринских хроматид холокинетических хромосом от их расхождения в первом делении инвертированного мейоза. Инвертированный мейоз, по-видимому, возник вторично, как адаптация молекулярного аппарата классического мейоза к специфике холокинетических хромосом.

Впервые мейоз с измененным порядком событий был обнаружен у растений ожики *Luzula* из семейства Juncaceae (Malheiros et al., 1947) и у насекомых из группы червецов и щитовок (кокцид, Coccoidea), а также тлей (Aphidae) (Hughes-Schrader, 1948), поэтому в старых публикациях он иногда именуется мейозом типа *Luzula* или типа кокцид. Однако в собирательном смысле он называется инвертированным мейозом (Rhoades, 1961; John, 1990; Cabral et al., 2014; Heckmann et al., 2014), и в этих источниках описана цитология такого мейоза.

Инвертированный мейоз присущ многим (но не всем) организмам с холоцентрическими (holocentric) хромосомами, они же — холокинетические хромосомы, то есть такие хромосомы, у которых множественные центромеры распространены почти на всю длину хромосом, кроме субтеломерных и теломерных районов.

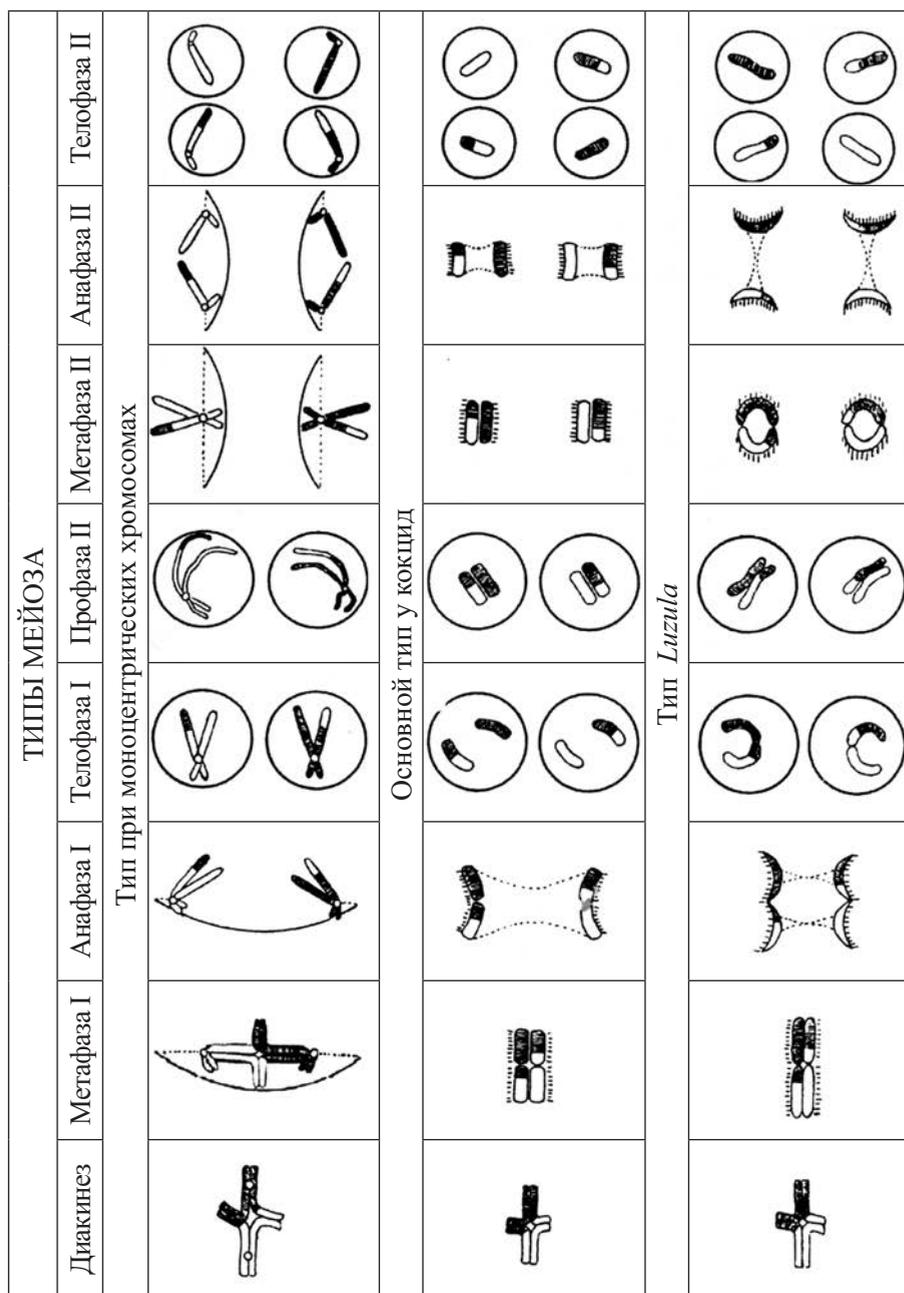
## Суть инверсии мейоза

Суть инверсии мейоза состоит в том, что в анафазе I расходятся к полюсам не гомологичные хромосомы (как в обычном, классическом мейозе), а сестринские хроматиды (как в митозе), и после первого деления такого мейоза дочерние клетки остаются диплоидными; в анафазе II расходятся несестринские хроматиды, и четыре продукта двух делений мейоза становятся, наконец, гаплоидными клетками. Схема двух клеточных делений инвертированного мейоза показана на рис. 13.1. Причины изменения порядка событий в этом типе мейоза долгое время оставались неизвестными, и пути к их выявлению (но ещё не полное решение) удалось найти только после внедрения в практику методов флуоресцентной *in situ*-гибридизации ДНК (FISH) и флуоресцентной иммуноцитохимии белков. В наиболее отчётливой форме это удалось сделать на примере мейоза у *Luzula elegans* (Heckmann et al., 2014).

Исследование вариантов мейоза, отличающихся от варианта, который закрепился в ходе эволюции у большинства организмов, важно для понимания того, как вообще произошел мейоз. Заметные успехи в понимании молекулярных процессов инвертированного мейоза достигнуты при его исследовании у растений из родов *Rhynchospora* (Cabral et al., 2014) и *Luzula* (Heckmann et al., 2014; Ma et al., 2016). Эти отличия вызваны, в первую очередь, особенностями холоцентрических хромосом в противоположность моноцентрическим хромосомам организмов, обладающих классическим мейозом

## Холоцентрические хромосомы

В холоцентрических хромосомах множественные центромеры располагаются «пунктирно» по длине каждой хромосомы (Marques et al., 2015; Ma et al., 2016), в отличие от центромер моноцентрических хромосом, присущих большинству видов растений, грибов и животных. Во время профазы митоза и мейоза множественные центромеры разделены промежутками хроматина, несущего гены. Но во время метафазы как в митозе, так и в мейозе, когда хромосомы предельно конденсированы, их центромеры и кинетохоры сближаются и видны под электронным микроскопом или с помощью антител к их белкам как сплошная линия или кинетохорная пластинка вдоль хромосомы. Она покрывает до 90% длины метафазной хромосомы, оставляя свободными только субтеломерные и теломерные районы хромосом. В метафазе I мейоза эта «пластинка» у некоторых объектов бывает замаскирована конденсированным хроматином, и создается впечатление, что микротрубочки веретена просто погружены в хроматин. В результате уникального исследования, выполненного с помощью электронного микроскопа, утверждалось, что в профазе I мейоза холоцентрические хромосомы у насекомого *Oncopeltus fasciatus* вообще не имеют кинетохоров (Comings, Okada, 1972). Однако для распространения этого вывода на холоцентрические хромосомы других организмов нужна серьёзная проверка иммуноцитохимическими методами. Фундаментальные исследования в этой области проведены в Институте генетики и растениеводства в Гатерслебене, Герма-



**Рис. 13.1.** Схема расхождения гомологичных хромосом и сестринских хроматид при инвертированном типе мейоза у организмов с холокинетическими хромосомами в сравнении с обычным мейозом при моноцентрических хромосомах.

По: Rhoades, 1961, с изменениями.

ния (Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben) (Ma et al., 2016).

Следует напомнить, что в узком смысле центромерой принято называть специфическую последовательность нуклеотидов ДНК, а кинетохором — белковую ультраструктуру, локализованную на центромерной ДНК и контактирующую с микротрубочками веретена деления. Судя по новейшим публикациям, это может оказаться не так по отношению к холоцентрическим хромосомам у растений из семейств *Suraceae* и *Juncaceae*, ибо у этих растений присутствие множественных центромер (повторов центромерной ДНК) было установлено лишь с помощью антител к центромерным гистонам (Cabral et al., 2014; Heckmann et al., 2014), а именно, к CENH3 (он же CENP-A) и H2AThr120ph, а иммунодетекцию белков внешнего слоя кинетохоров (CENP-C) не проводили. Но затем появились публикации с упоминанием кинетохорных белков (Marques et al., 2015; Ma et al., 2016), и один из лидеров этих исследований сообщил: «Я думаю, что существуют разные типы кинетохоров, включая холоцентрические виды. Мы можем идентифицировать разные кинетохорные белки в транскриптомах *Luzula* и *Rhynchospora*. Однако до сих пор мы детально охарактеризовали только некоторые из них, и нам ещё предстоит проделать много работы» (А. Houben, личное сообщение Ю.Ф. Богданову, 2016).

У *Luzula* и *Rhynchospora* микротрубочки прикрепляются ко многим тесно расположенным в линию центромерам (кинетохорам) и во время анафазы I мейоза тянут к полюсам длинное «тело» хроматиды, лежащее перпендикулярно к направлению его движения.

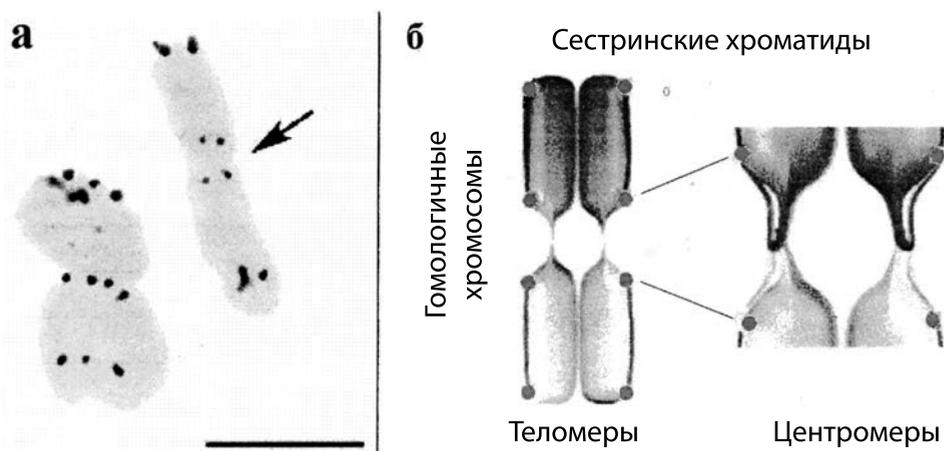
**Ограниченная встречаемость инверсии мейоза среди животных с холоцентрическими хромосомами.** Помимо растений из семейств *Juncaceae* и *Suraceae*, холоцентрические хромосомы есть у круглых червей (Nematoda), у насекомых из отряда Hemiptera, подотряда Homoptera: тлей (Aphidae), червецов и щитовок (Coccoidea), у клопов (Heteroptera) и у чешуекрылых (Lepidoptera) (см. гл. 12). В перечисленных таксонах растений и животных есть виды с инвертированным мейозом, равно как и виды, у которых мейоз протекает обычным способом. К объектам с холоцентрическими хромосомами, но с обычным порядком событий в мейозе относятся нематода, модельный объект генетики *Caenorhabditis elegans* (см. гл. 10), и представитель чешуекрылых тутовый шелкопряд *Bombyx mori* (гл. 12). У *C. elegans* во время профазы I мейоза происходит так называемое ремоделирование хромосом: центромеры интерстициальных районов хромосом теряют свою кинетическую функцию, вся эта активность сосредотачивается на одном из концов каждой хромосомы. Хромосомы становятся телоцентрическими и ведут себя в мейозе как обычные моноцентрические хромосомы. У бабочек *B. mori* и *Ephestia kuehniella* мейоз «избегает» инверсии благодаря превращению хромосом в субметацентрические (гл. 12).

Обзор разных вариантов ахизматического мейоза опубликован Кузнецовой и Грозевой (2010). Из этого обзора следует, что ахизматический мейоз не бывает инвертированным. Однако есть сообщение об исключительном случае инвертированного мейоза у ахизматического растения *Rhynchospora tenuis* из семейства *Suraceae* (Cabral, 2014). Этот исключительный случай описан в одном из разделов данной главы.

## Инверсия мейоза у растений

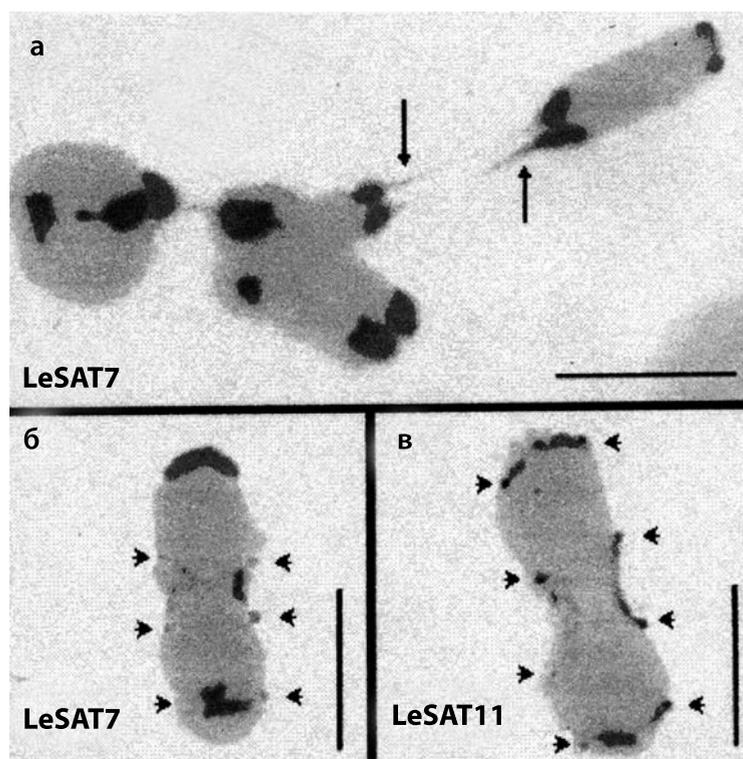
**Мейоз у *Luzula*, семейство *Juncaceae*.** Вид *L. elegans* (Lowe) имеет три пары хо-лоцентрических хромосом ( $2n=6$ ). В метафазе I мейоза на экваторе веретена деле-ния выстраиваются три бивалента. В этих бивалентах гомологичные хромосомы соединены концами с помощью тяжей хроматина и имеют палочковидную форму (рис. 13.2). Толщина соединительных тяжей составляет менее 0,5 мкм, а их дли-на — до 6 мкм (Heckmann et al., 2014).

С помощью метода FISH эти авторы установили, что соединительные тяжи хроматина содержат сателлитную ДНК и другие ДНК-повторы (рис. 13.3). Ну-клеотидные последовательности сателлитной ДНК в межхромосомных тяжах хроматина различаются в разных хромосомах и содержат не только один тип ДНК-сателлита, а именно, LeSAT7, но и сателлиты LeSAT28 и LeSAT63, однако не во всех бивалентах. Из 50 специально изученных бивалентов только 27 содер-жали флуоресцентную метку сателлита LeSAT28. Весьма существенно, что тем же методом такие же контакты были обнаружены между концами гомологичных хромосом и на стадии пахитены. Следовательно, контакт, необходимый для по-



**Рис. 13.2.** Микрофотография и схема палочковидных бивалентов хромосом у *Luzula elegans*.

а — флуоресцентная микрофотография двух бивалентов; чёрные точки — флуоресцентные фокусы свечения теломерной ДНК (гибридизации с зондом теломерной ДНК). Гомологичные хромосомы соединены концами (стрелка). В левом биваленте видны все четыре хроматиды, в правом — только две несестринские хроматиды, принадлежащие гомологичным хромосомам (вид на бивалент «с ребра»). Масштабная линейка 10 мкм.  
б — схематическое изображение одного бивалента и тяжей хроматина, соединяющих концы гомологичных хромосом. Красными точками условно обозначены фокусы свечения теломерной ДНК. По: Heckmann et al., 2014, с изменениями.



**Рис. 13.3.** Контакты гомологичных хромосом на стадии диакинеза и МI у *L. elegans*, выявляемые с помощью метода FISH с зондами сателлитной ДНК. Яркие фокusy свечения — флуоресцентные ДНК-зонды LeSAT7 (а, б) и LeSAT11(в). Головками стрелок указаны фокusy свечения теломерной ДНК. Стрелками указаны тяжи ДНК между локусами гомологичных хромосом, несущие флуоресцентные сигналы LeSAT7 или LeSAT11. Масштабные линейки — 10 мкм. Из Heckmann et al., 2014, с дополнениями.

строения гомологов на экваторе веретена в метафазе I мейоза, возникает заблаговременно во время профазы I. Это соответствует времени формирования хиазм в классическом мейозе.

С помощью трех зондов сателлитной ДНК, меченных разными флуорохромами, удалось идентифицировать все хромосомы *L. elegans* и их биваленты в мейозе. Благодаря этому выяснили, что любой из двух концов каждой хромосомы может контактировать во время метафазы I (MI) с любым из двух концов гомологичной и только гомологичной хромосомы (Heckmann et al., 2014). На экваторе веретена деления в MI контактирующие концами гомологичные хромосомы располагаются в линию, и бивалент выглядит как палочка, лежащая поперек оси веретена. Такая конфигурация хромосом в MI обеспечивает ориентацию центромер сестринских хроматид на противоположные полюса (аутоориентация) и условия для разъедине-

ния и расхождения сестринских хроматид в анафазе I (AI). Расхождение хромосом *L. elegans* в AI оказывается эквационным.

Возникают вопросы: 1) как происходит спаривание гомологичных хромосом и формирование бивалентов в профазе I мейоза у *Luzula* и (2) когда возникают условия для формирования палочковидных бивалентов?

**Синапсис и синаптонемный комплекс.** На стадиях лептотены и зиготены в ядрах материнских клеток пыльцы *L. elegans* были обнаружены многочисленные нитевидные структуры, окрашенные флуоресцентными антителами к белку ASY1 — основному белку латеральных элементов синаптонемных комплексов растений (использованы антитела к белку ASY1 *A. thaliana*). По всей видимости, эти нитевидные структуры являются осевыми элементами хромосом, которые становятся в пахитене латеральными элементами СК.

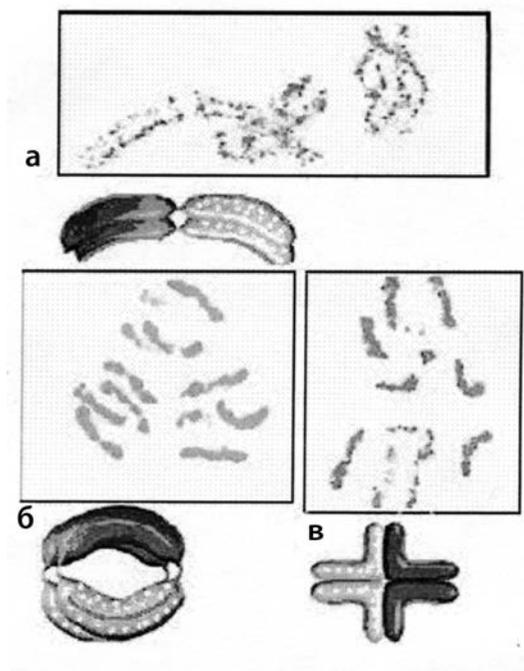
Ещё более важно, что на стадиях зиготены и пахитены наблюдались нитевидные треки фокусов флуоресценции антител к ZYP1 — белку центральных элементов СК. Совмещения фокусов флуоресценции ASY1 и ZYP1 в одном ядре (для доказательства их связи в пространстве) авторы этой работы не делали, но в целом иммунофлуоресцентные фотографии авторов можно считать удовлетворительным доказательством формирования СК в мейозе у *L. elegans* (Heckman et al., 2014). Эти авторы также наблюдали фигуру букета синаптирующих хромосом на стадии зиготены у *L. elegans*.

Таким образом, спаривание и синапсис гомологичных хромосом у *Luzula* совершаются так же, как у растений с моноцентрическими хромосомами, и различия в ориентации бивалентов в метафазе I не зависят от ранних стадий профазы I. Следующий вопрос: как формируются хиазмы между гомологами у *L. elegans* и что с ними происходит при переходе от диакинеза к метафазе I.

**Хиазмы и биваленты.** Для изучения конфигурации хромосом в диплотене и диакинезе у *Luzula* исследователи (Heckmann et al., 2014) применили иммуноцитохимический анализ холокинетических центромер. Были использованы антитела к специфическим гистонам центромерных районов хромосом: гистону H2A, фосфорилированному в положении Thr120, и центромерному гистону H3, носящему название CENH3, он же — белок CENP-A.

Во время митоза в соматических клетках у *Luzula* флуоресцентные сигналы этих гистонов образуют две параллельные светящиеся линии (полилокальные центромеры), каждая из которых маркирует одну из сестринских хроматид. Во время профазы и метафазы митоза фокусы центромерных гистонов покрывают почти всю длину хроматид, кроме теломер.

В мейозе, на стадии пахитены, у *L. elegans* клеточное ядро заполнено диффузной сеткой светящихся фокусов флуоресценции анти-CENH3. Во время диплотены эти фокусы выстраиваются в параллельные линии (как в профазе митоза) и таким образом маркируют холоцентрические центромеры. Эти линейные холоцентрические центромеры сохраняются и на стадии диакинеза. Благодаря им удалось проследить конфигурацию бивалентов и хиазмы (рис. 13.4). Таким образом, палочковидная структура хромосом и их бивалентов на экваторе веретена в метафазе I определяется жесткостью центромерной пластинки и терминальным расположением хиазм.



**Рис. 13.4.** Микрофотографии множественных центромер (центромерных «пластинкок») хромосом у *L. elegans* на стадиях диакинеза (а) и метафазы I (б, в), выявленных с помощью иммуноокраски антителами к центромерному гистону CENH3, и муляжи бивалентов хромосом. Центромерные пластинки покрывают почти всю длину хромосом за исключением теломер. Дополнительно к этому хромосомы были окрашены красителем DAPI (на этих фотографиях не показано). Поэтому удалось реконструировать конфигурацию бивалентов (показаны в виде муляжей) и расположение хиазм. По: Heckmann et al., 2014, с сокращениями.

**Метафаза I и хиазмы.** Ещё в 1962 году Норденшельд (Nordenskiöld, 1962), исследуя мейоз у оживки *L. purpurea* ( $2n=12$ ), обнаружил три варианта хиазм в метафазных бивалентах. В исследовании новейших авторов (Heckmann et al., 2014) на *L. elegans* были обнаружены такие же варианты распределения хиазм. Они таковы: одна концевая хиазма на бивалент (палочковидный бивалент), или две концевые хиазмы (кольцевой бивалент), или одна интерстициальная хиазма (крестовидный бивалент). Всего у *L. elegans* авторами было изучено 289 бивалентов, из них 43% были палочковидными, 47,3% — кольцевыми и 9,7% — крестовидными (Heckmann et al., 2014).

Морфологически одинаковые при монохромной окраске три пары хромосом были идентифицированы благодаря их разному рисунку FISH с ДНК-зондами разных повторяющихся последовательностей нуклеотидов. Поэтому удивительным кажется утверждение авторов (Heckmann et al., 2014), что каждый из бивалентов может иметь любую из трех указанных конфигураций. Это означает, что в каждой

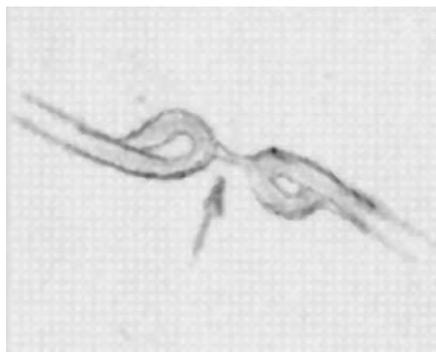
паре гомологичных хромосом хиазмы могут формироваться в трех локусах: вблизи только одного из концов, вблизи обоих концов (субтеломерно) и интерстициально (но ближе к одному из концов). Если авторы правы в этом утверждении, то вероятность встречаемости такого расположения хиазм в каждой хромосоме равна соответственно тем процентам встречаемости трех типов бивалентов, которые указаны выше.

Существенно то, что хроматиновые нити, соединяющие концы гомологичных хромосом, в пахитене и в метафазе I у *L. elegans* прикрепляются не к теломерам, а к субтеломерным сегментам хромосом (рис. 13.5).

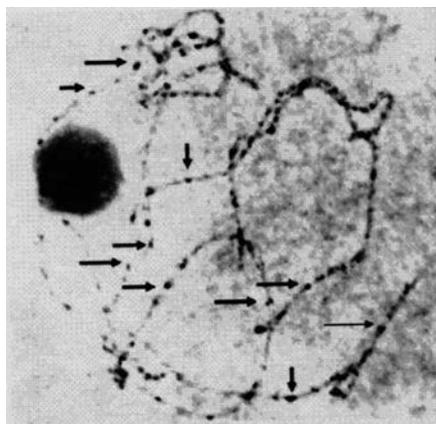
Методом FISH было установлено, что теломерные повторы в области контакта концов гомологичных хромосом подогнуты так, что «замыкаются», соединяясь с более проксимальными локусами хромосом, и поэтому образуют петли (рис. 13.5). Поэтому вполне вероятно, что справедливо предположение исследователей о том, что хроматиновые тяжи между гомологичными хромосомами — это хиазмы, сохранившиеся только в субтеломерных районах, на которые не распространяется центромерная пластинка. В концевых районах хромосом нет центромерной ДНК, и эти локусы хромосом доступны для кроссинговера и формирования хиазм. Это согласуется с правилами распределения локусов кроссинговера по хромосомам, а именно: у моноцентрических хромосом кроссинговера не бывает в прицентромерных районах хромосом, состоящих из гетерохроматина.

**В анафазе I** у *L. elegans* расходятся сестринские хроматиды каждой гомологичной хромосомы. Однако они остаются соединенными концами с несестринскими хроматидами своих гомологов. Таким образом, в дочерние клетки после первого деления попадают пары несестринских хроматид, принадлежащие гомологичным хромосомам.

**Мейоз II.** После обычного интеркинеза и профазы II у *L. elegans* на экваторе веретена

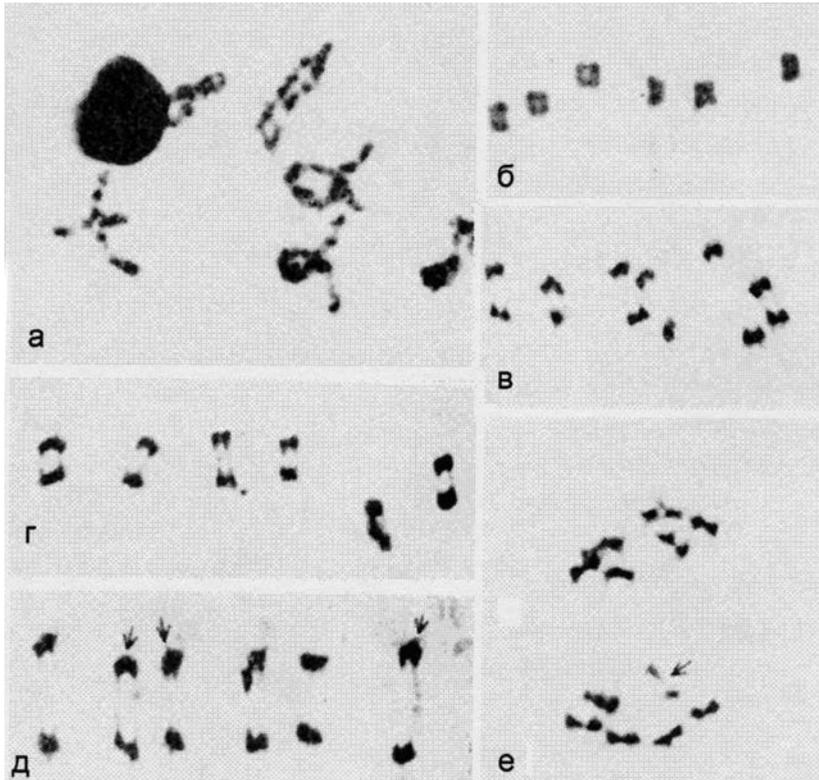


**Рис. 13.5.** Произвольная зарисовка, по описаниям авторов (Heckmann et al., 2014), тяжа хроматина (указан стрелкой), соединяющего субтеломерные области гомологичных хромосом *L. elegans*. Теломерные концы образуют петли.



**Рис. 13.6.** Мейоз у *Luzula purpurea* ( $2n=12$ ), стадия пахитены.

Морфология пахитенных хромосом не отличается от морфологии хромосом на таких же стадиях у злаков, например, у кукурузы, имеющих классический мейоз. Стрелками указаны хромомеры. Из Rhoades, 1961, с изменениями.



**Рис. 13.7.** Инвертированный мейоз у *L. purpurea*.

а — диакинез, видны шесть бивалентов с хиазмами; б — метафаза I. Видно, что каждый бивалент состоит из четырех хроматид; в-д — разные стадии анафазы I. Расходятся к полюсам сестринские хроматиды. Стрелками указаны предполагаемые места контакта (хиазм) несестринских хроматид; е — телофаза I. Микрофотографии из Rhoades, 1961 с сокращениями, изменениями в обозначениях и комментариях.

во время метафазы II выстраиваются биваленты, состоящие каждый всего из двух хроматид, расположенных параллельно и контактирующих бок о бок. Эти хроматиды — несестринские. Биваленты в профазе II и метафазе II обоснованно называются «вторичными бивалентами», в отличие от обычных бивалентов в диакинезе и метафазе I, состоящих из четырех хроматид.

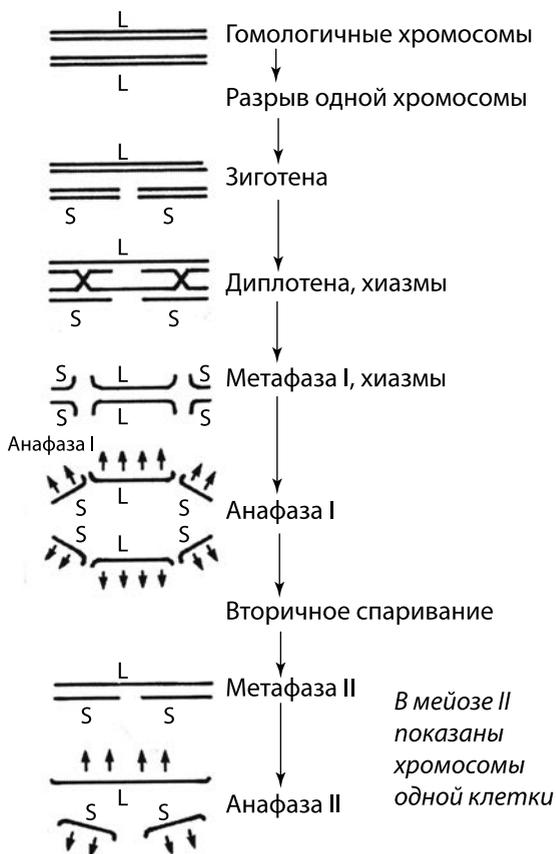
Центромеры вторичных бивалентов униполярны. Они расходятся к полюсам в анафазе II. Поэтому редукция числа хромосом происходит только в ходе мейоза II.

Цитологическая картина мейоза у *L. purpurea* представлена на рис. 13.6. и 13.7.

## Доказательство эквационного характера мейоза I у *Luzula*

**Мейоз у гетерозигот по хромосомным перестройкам.** Расхождение в анафазе I к полюсам именно сестринских хроматид и отсутствие редукции числа хромосом в первом делении мейоза было полностью доказано путем анализа мейоза у гетерозиготных растений *L. purpurea* (Nordenskiöld, 1963) и *L. elegans* (Heckmann et al., 2014). Эксперименты были одинаковыми. Авторы публикации 2014 г. воспроизвели на своём материале эксперимент, сделанный за полвека до них, и наблюдали аналогичную цитологическую картину. Одна из шести хромосом растения *Luzula* была разорвана с помощью облучения рентгеновскими лучами на две части. Обе части хромосомы сохраняли кинетическую активность в митозе и мейозе, поскольку имели множественные центромеры. В опыте на *L. purpurea* (Nordenskiöld, 1963) два фрагмента разорванной хромосомы имели одинаковую длину, а в опыте на *L. elegans* (Heckmann et al., 2014) один из гомологов хромосомы 1 был разорван на большой и малый кинетически активные фрагменты. В эксперименте 2014 г. было установлено, что фрагменты сестринских хроматид расходятся в анафазе I к разным полюсам: к каждому полюсу отходили два фрагмента (большой и малый) хроматиды разорванного гомолога и по одной хроматиде неповрежденного гомолога. Таким образом, в мейозе I наблюдалось истинное эквационное деление обоих гомологов хромосомы номер 1. Аналогичный эксперимент Норденшельда на *L. purpurea* поясняется схемой (рис. 13.8).

Норденшельд проверил фертильность растения, гетерозиготного по



**Рис. 13.8.** Схема расхождения в мейозе гетероморфного бивалента хoloцентрических хромосом у растения *L. purpurea*, гетерозиготного по разрыву в этой хромосоме. L — интактная хромосома. Разорванная хромосома состоит из двух хoloцентрических фрагментов (S, S), сохраняющих кинетическую активность в митозе и мейозе. Бивалент имеет две субтерминальные хиазмы. По: Nordenskiöld, 1963, из John, 1990, с изменениями.

хромосомной перестройке (на котором выполнил свой опыт), и убедился в жизнеспособности потомства этого уникального растения (Nordenskiöld, 1963). Он опылил растение, гетерозиготное по разрыву хромосомы, его собственной пылью и получил гомозиготу по разорванной хромосоме, то есть растение *L. purpurea* с хромосомами  $2n=8$ , из которых четыре хромосомы были нормальной длины, а еще четыре — короткими, ибо они были частями разорванных хромосом.

## Инвертированный мейоз у *Rhynchospora*, семейство Cyperaceae

Два вида растений из семейства Cyperaceae — *Rhynchospora pubera* ( $2n=10$ ) и *R. tenuis* ( $2n=4$ ), — так же как и *Luzula*, имеют холоцентрические хромосомы и инвертированный мейоз. Сравнение инвертированного мейоза у двух видов *Rhynchospora* интересно тем, что у одного из видов в мейозе есть хиазмы, а у другого мейоз ахизматический. Хиазматический мейоз у *R. pubera* протекает по той же схеме, что мейоз у всех *Luzula*. Ахизматический мейоз у *R. tenuis* отличается от ахизматического мейоза у других объектов (например, у насекомых из отрядов Lepidoptera и Heteroptera), ибо, в отличие от них, он оказался инвертированным (Cabral et al., 2014).

У хиазматического вида *R. pubera* в профазе I наблюдались многочисленные фокусы антител к белку рекомбинации RAD51. Следовательно, происходило процессирование множественных двунитевых разрывов ДНК. Эта профаза I мейоза имела классический вид под световым микроскопом. Были обнаружены треки флуоресцентных сигналов ASY1 — белка латеральных элементов СК (но присутствие или отсутствие СК под электронным микроскопом не исследовали). В диакинезе и метафазе I большинство хромосом было видно в форме бивалентов. Среди 1380 изученных пар хромосом 73,3% было с одной терминальной хиазмой, 25,2% — с двумя терминальными хиазмами, но в 3,5% случаев встречались униваленты. В метафазе I хромосомы были связаны микротрубочками веретена с обоими его полюсами, но каждая из двух сестринских хроматид — только с одним полюсом, поэтому в анафазе I расходились сестринские хроматиды. Таким образом, первое деление мейоза происходит по типу инвертированного мейоза, как у *Luzula*. Однако дальнейшее развитие мейоза весьма архаично.

В профазе II только в 25,5% клеток несестринские хроматиды претерпевают вторичное спаривание, характерное для инвертированного мейоза. В этих клетках формируются ожидаемые пять бивалентов (Cabral et al., 2014). В этих вторичных бивалентах хроматиды контактируют между собой с помощью тяжелой ДНК, так же как во вторичных бивалентах у *Luzula*, но идентифицировать эту ДНК не удалось. В остальных клетках число бивалентов снижалось по закону убывания редких случайных событий (в 45% клеток — четыре бивалента, в 29,5% — три или два бивалента и в 9% клеток — один или 0 бивалентов).

В профазе II и метафазе II наблюдалась нехватка видимых под микроскопом вторичных контактов несестринских хроматид, то есть нехватка вторичных бивалентов в большинстве клеток. Несмотря на это, в анафазе II у *R. pubera* в 80% кле-

ток несестринские хроматиды расходились редуционно и поровну и формировали гаплоидные наборы хромосом в микроспорах, то есть происходило редуционное деление. Но почти в 20% клеток наблюдалось неравное расхождение несестринских хроматид к полюсам, и хромосомные наборы в микроспорах оказывались несбалансированными (анеуплоидными). Соответственно наблюдались стерильные пыльцевые зерна.

Таким образом, у *R. pubera* инвертированный мейоз в целом проходил довольно благополучно, несмотря на 20% неудач за счёт либо потери хиазм, либо отсутствия вторичного спаривания несестринских хроматид.

На одном из растений *R. pubera* было выполнено такое же наблюдение, как на растениях двух видов *Luzula*, гетерозиготных по хромосомной перестройке (что описано в предыдущем разделе). У этого растения *R. pubera* один из гомологов хромосомы 2 имел разрыв, и холоцентрические фрагменты этого гомолога расходились эквационно в анафазе I и редуционно в анафазе II.

У ахиазматического вида *R. tenuis* ( $2n=4$ ) обе пары холоцентрических хромосом хорошо идентифицируются благодаря различию в размерах этих хромосом. Кроме того, пара коротких хромосом маркируется окраской ядрышкового организатора флуорохромом CMA, а пара длинных хромосом идентифицируется благодаря присутствию кластера 5S рДНК (выявляется методом FISH). На стадии ранней профазы I наблюдали фокусы белка RAD51 на хромосомах, а в клетках, делящихся путем митоза, таких фокусов эти авторы не обнаружили (Cabral et al., 2014). Следовательно, на ранних стадиях мейоза возникали двунитевые разрывы ДНК, которые процессировались с помощью белка RAD51. В профазе I выявлялись осевые элементы хромосом, содержащие белок ASY1, как и у вида *R. pubera*. Следовательно, существовала характерная для мейоза осевая организация хромосом. Присутствие или отсутствие СК авторы не исследовали или не сумели исследовать, но установили, что в ранней профазе I в 71% клеток (изучено 90 клеток) две короткие хромосомы контактируют концами, в то время как ассоциация этих хромосом бок о бок (латерально) встречается «реже» (без указания частоты этих событий). Маркеры двух длинных хромосом в 80% клеток в профазе I не контактировали между собой (было исследовано 30 клеток), из чего авторы сделали поспешный вывод, что хромосомы этой пары также не синаптировали латерально. Одного маркерного локуса на хромосому недостаточно, чтобы утверждать, что маркеры других локусов тоже не спариваются. Однако важно, что в метафазе I во всех изученных клетках наблюдались только униваленты, хиазм не было обнаружено. В анафазе I всегда расходились сестринские хроматиды. В диады микроспор попадали только сбалансированные наборы из четырех хроматид. Выборка изученных клеток была весьма репрезентативной: изучено 107 клеток.

В профазе II у *R. tenuis* наблюдались контакты несестринских хроматид. Эти контакты были как концевыми, так и латеральными. Часто прослеживались контакты с помощью тяжелой ДНК (окраска с помощью красителя DAPI). В анафазе II и телофазе II в 30% исследованных клеток у полюсов наблюдались несбалансированные наборы хромосом, причем в каждом четвертом случае в одну клетку в результате анафазы II попадали две несестринские хроматиды одной пары, то есть редуционного деления этой пары хромосом не было. Соответственно, наблюдалось много

абортивных пыльцевых зерен. Столь высокий процент аномалий второго деления мейоза удивителен, поскольку в метафазе II (исследовано 142 клетки) и в анафазе II (54 клетки) все несестринские хроматиды были униполярны. Это было установлено с помощью флуоресцентных антител к белкам микротрубочек веретена: они всегда соединяли хроматиду только с одним полюсом веретена в метафазе II и анафазе II.

В этом исследовании двух видов *Rhynchospora* с холоцентрическими хромосомами из семейства Сурегасеа было строго доказано, что их мейоз имеет инвертированный характер. Но при этом у хиазматического вида *A. pubera* мейоз весьма совершенен, а ахиазматический вид *A. tenuis* имеет ненадёжное второе деление мейоза с несовершенным механизмом сегрегации несестринских хроматид в этом делении. Возможно, что этот вид выжил только потому, что он обладает всего двумя парами хромосом, и даже случайное расхождение всех четырех хроматид в анафазе II статистически гарантирует почти в половине случаев сбалансированные наборы из двух негомологичных хроматид у полюсов деления и выживание этих микроспор.

## Инвертированный мейоз у насекомых

**Мейоз при сперматогенезе.** Авторитетный американский цитогенетик Родес (Rhoades, 1961) писал о большом разнообразии цитологических картин мейоза у разных групп кокцид, но наиболее простым примером, возможно, исходным архетипом мейоза считал мейоз у кокциды *Puto* и предполагал, что этот тип мог стать базовым типом для более сложных систем мейоза.

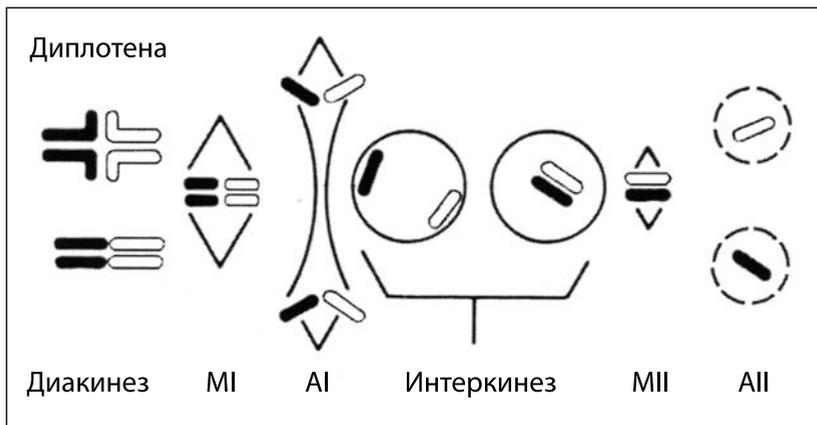
В мейозе у обоих полов *Puto* формируются биваленты с хиазмами. Хиазмы полностью терминализуются в метафазе I, а биваленты превращаются в пары хромосом, соединенных тандемно, и выглядят в виде палочки из двух хромосом, соединенных конец в конец, но каждая «палочка» состоит из двух хроматид, склеенных боками. Каждая хромосома оказывается «ауто-ориентированной» и «биполярной» на экваторе веретена деления мейоза I (Rhoades, 1961).

В анафазе I у *Puto* к полюсам расходятся сестринские хроматиды. Более точно — разъединяются (эквационно) некрссоверные сегменты сестринских хроматид (рис. 13.9).

Во время интеркинеза несестринские хроматиды остаются скрепленными конец в конец хиазмами (так же как у оживки *L. elegans*) и затем спариваются боками («вторичное» спаривание). Это спаривание им нужно для построения на экваторе веретена деления. Вторичные биваленты несестринских хроматид выстраиваются на экваторе веретена деления в метафазе II. Они коориентированы, т.е. каждая хроматида соединена только с одним полюсом веретена, и в анафазе II несестринские хроматиды расходятся к полюсам. Для некрссоверных сегментов хромосом мейоз II оказывается редукционным.

Классификация типов инвертированного мейоза у кокцид была сделана в классическом обзоре Хьюз-Шрэдер (Hughes-Schrader, 1948). В нем описано пять типов такого мейоза.

**Первый тип** описан выше, это «базовый» тип мейоза кокцид рода *Puto*. **Второй тип** встречается, например, у *Matsucoccicus*. Он также представляется как примитивный мейоз, за исключением поведения многочисленных X-хромосом. Сре-



**Рис. 13.9.** Схема поведения одной пары гомологичных холокинетических хромосом (обозначены разным цветом) и их сестринских хроматид (одинаковый цвет) в инвертированном мейозе у кокциды *Puto albicans*. Из John, 1990, с изменениями.

ди них нет гомологов. Это как бы одна X-хромосома, состоящая из шести холоцентрических фрагментов (иногда употребляется термин «компаунд X-хромосом»). В ходе сперматогенеза, в метафазе I, шесть X-хромосом выстраиваются кольцом на экваторе веретена вокруг аутосом, находящихся внутри веретена, ближе к его продольной оси. В анафазе I все X-хромосомы уходят к одному полюсу, поэтому мейоз I для X-хромосом редуционный, а мейоз II для них — эквационный. Аутосомы ведут себя так же, как все хромосомы у *Puto*, то есть первое деление для некроссосверных сегментов хроматид эквационное, второе — редуционное.

**Третий тип** мейоза, наблюдаемый у самцов ищериновых кокцид, ещё проще, ибо эти самцы гаплоидны. «Мейоз» у них состоит из одного клеточного деления, которое, конечно, эквационное. Ещё одна особенность этого мейоза в том, что веретено деления закладывается и выполняет свою функцию внутри ядерной оболочки, как у Protozoa.

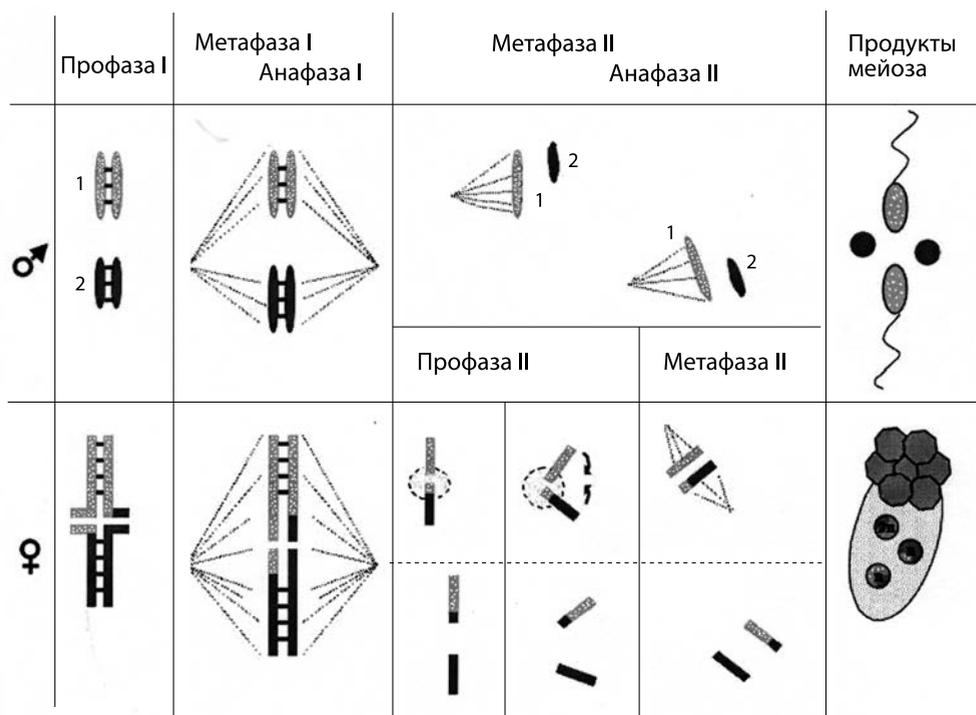
**Четвертый тип** инвертированного мейоза обнаружен у *Laveia bouvari* и именуется типом *Laveia*. Он существенно более сложен. Во время профазы I ядро распадается на несколько микроядер: каждый бивалент (или унивалент в случае асинопсиса гомологов) окружается собственной ядерной мембраной. Каждый бивалент или унивалент формирует собственное веретено деления. Эти индивидуальные веретёна укладываются параллельно, имитируя единое веретено. Асинопсис гомологов пары самых коротких хромосом наблюдается регулярно в 5% мейоцитов. Все хромосомы — синаптические (в составе бивалентов) и асиноптические (унивалентные) — в анафазе I расходятся эквационно. В профазе II происходит вторичное спаривание несестринских хроматид, а в анафазе II происходит редуционное расхождение этих хроматид. Этот тип мейоза, по сути, напоминает первый тип (тип *Puto*), за исключением индивидуальных веретён каждой хромосомы.

**Еще один вариант** мейоза этого типа наблюдался у самцов *Protortonia primitiva*, имеющих две пары аутосом и одиночную X-хромосому (Rhoades, 1961). При переходе от телофазы последнего митоза сперматогониев к профазе I мейоза все пять хромосом разъединяются на хроматиды. Профазное ядро разъединяется на микроядра (в принципе, как у *Lavenia*), но эти микроядра несут разное содержимое. Крупное микроядро содержит четыре хроматиды, принадлежащие паре крупных аутосом. Они соединены в цепь, очевидно, концевыми хиазмами. Цепь из двух пар хроматид вытягивается вдоль длинной оси микроядра. Хроматиды второй пары хромосом оказываются внутри двух микроядер меньшего размера, в каждом микроядре — по две сестринских хроматиды. Наконец, четвертое микроядро содержит пару сестринских хроматид X-хромосомы. Мейоз I наступает для этих микроядер асинхронно. Ядерные мембраны исчезают, цепь из четырех хроматид теряет осевую ориентацию. Особой ориентации пар хроматид в веретене не наблюдается, и часто хроматиды разных пар расходятся к полюсам в анафазе I асинхронно по отношению к другим парам (Rhoades, 1961). Важно, что все пары хроматид расходятся в анафазе I эквационно. В профазе II происходит вторичное спаривание: спариваются несестринские хроматиды. Редукционное деление — второе деление мейоза.

Нетрудно заметить, что второй, третий и четвертый типы мейоза являются видоизменениями первого, «основного», типа мейоза кокцид, представленного на рис. 13.9.

Наконец, при пятом типе инвертированного мейоза у самцов кокцид, названного **леканоидным** типом (Rhoades, 1961), например, у мучного червеца *Planococcus citri* (Bongiorni et al., 2004), мейоз характеризуется регулярным разделением на два гаплоидных генома без предварительного попарного синапса хромосом в мейозе I и без вторичного спаривания гомологов в мейозе II (рис. 13.10). Точное разъединение гаплоидных геномов достигается другим способом. Гаплоидные наборы хромосом у самцов различаются способом конденсации и поведения в сперматоците первого порядка. Один гаплоидный набор хромосом постоянно остается конденсированным (гереропикнотичным, гетерохроматинизированным), другой гаплоидный набор находится в деконденсированном (эухроматинизированном) состоянии. Перед метафазой I степень конденсации этих наборов выравнивается, и в метафазе I они неотличимы один от другого. В анафазе I расходятся сестринские хроматиды. У каждого полюса в анафазе I группа хромосом содержит равное число из хромосом из «гетерохроматинизированного» и из «эухроматинизированного» наборов, и в профазе II клетки содержат по  $2n$  хромосом. В мейозе II только хроматиды из бывшего эухроматинизированного набора хромосом формируют монополярное веретено (половину веретена). Они отходят к полюсу веретена и отделяются от гаплоидного набора несестринских хроматид, которые остаются неподвижными и вновь гетерохроматинизируются (рис. 13.10). В телофазе II наблюдается четыре группы хроматид: две группы с бывшими гетеропикнотичными хроматидами и две — с бывшими эухроматинизированными хроматидами. Только два ядра с эухроматинизированными хроматидами дают начало сперматидам, а о судьбе двух ядер с ранее конденсированными хромосомами ничего не сообщается (Rhoades, 1961; Bongiorni et al., 2004). Это наиболее архаичный тип мейоза.

**Инвертированный мейоз в оогенезе у кокцид и тлей.** Мейоз в оогенезе у некоторых кокцид проходит по такой же схеме, как при сперматогенезе у рода *Puto*, но



**Рис. 13.10.** Схема поведения хромосом в мужском и женском мейозе у мучного червеца *Planococcus citri*.

Пояснения — в тексте. Из Bongiorno et al., 2004, с изменениями.

встречаются модификации (Rhoades, 1961; Bongiorno et al., 2004). Довольно распространённая схема мейоза в оогенезе показана на рис. 13.10.

Некоторые виды кокцид имеют облигатный диплоидный партеногенез (Rhoades, 1961). При этом в ходе единственного и при этом эквационного деления такого «мейоза» нет спаривания хромосом. Фактически мейоз заменен митозом. Диплоидный пронуклеус яйца претерпевает деления без оплодотворения, и из таких неоплодотворенных яиц выводятся только самки.

У других видов кокцид встречается факультативный партеногенез. При этом мейоз протекает так же, как у самцов *Puto*. В результате мейоза образуются гаплоидное яйцо и направительные тельца, но второе направительное тельце сливается с яйцом, «оплодотворяя» его, и образуется диплоидное яйцо, которое начинает дробиться. В потомстве, естественно, также наблюдаются только самки. Сперматозоиды самцов тоже могут оплодотворять яйца этого типа, но самцы в популяциях встречаются очень редко.

Разнообразие способов партеногенеза у насекомых с холокинетическими хромосомами довольно велико (Srinivasan et al., 2010, 2014) и требует отдельного обзора.

## Смешанный тип мейоза у полужесткокрылых насекомых (Hemiptera, Heteroptera)

При этом типе мейоза половые хромосомы и аутосомы ведут себя по-разному. Половые хромосомы расходятся эквационно в анафазе I и только во время анафазы II расходятся редукционно. Аутосомы в обоих делениях мейоза ведут себя классическим способом: гомологи расходятся в мейозе I, а сестринские хроматиды — в мейозе II. Такой тип мейоза, а именно, эквационное деление половых хромосом в мейозе I, типичен для Heteroptera (Grozeva et al., 2006; Viera et al., 2009). Можно назвать это неполной инверсией мейоза. Однако среди Heteroptera существуют редкие исключения: например, у одного из мучнистых червецов (Pseudococcidae) половые хромосомы в мейозе I делятся редукционно (Grozeva et al., 2006).

Другим примером смешанного типа служит мейоз у самцов одного из травяных клопов (milkweed bug) *Oncopeltus fasciatus* (Hemiptera) с холокинетическими хромосомами ( $2n=16$ , XY) (John, 1990). В митозе холокинетические центромеры покрывают 75% длины хромосом. В ранней профазе I половые хромосомы (в отличие от аутосом) сильно конденсированы (гетеропикнотичны). После стадии зиготены аутосомы деконденсируются, становятся «диффузными», в то время как половые хромосомы остаются гетеропикнотичными. Семь пар холокинетических аутосом ремоделируются во время их диффузного состояния и становятся моноцентричными, но снова конденсируются в диакинезе, а X- и Y-хромосомы остаются конденсированными всё время. Во время метафазы I хромосомы X и Y оказываются лежащими бок о бок в центре веретена деления, а биваленты аутосом окружают их со всех сторон, располагаясь по периферии веретена. В анафазе I аутосомы расходятся редукционно, а половые хромосомы — эквационно. Необходимо обратить внимание на то, что во время метафазы I X- и Y-хромосомы *O. fasciatus* находятся в спаренном состоянии (не известно, за счет хиазмы или другим способом), но они ауто-ориентированы, то есть ориентированы по отношению к полюсам независимо одна от другой, и их сестринские хроматиды соединяются с разными полюсами. Этот случай показан на рисунке 5.17 в книге Б. Джона (John, 1990).

Еще одним примером смешанного типа мейоза служит мейоз у широко распространенного в странах средиземноморья травяного клопа *Graphosoma italicum* (Hemiptera, Heteroptera) с холоцентрическими хромосомами ( $2n=14$ , XX/XY). В митозе хроматиды расходятся типичным для этого типа центромер образом: в анафазе длинная ось хромосомы остается перпендикулярной направлению движения хроматид. Но в мейозе I вся кинетическая активность сосредотачивается на одном из концов каждой хромосомы, и они движутся к полюсу этим концом. При этом аутосомы расходятся редукционно, а половые хромосомы — эквационно. И только в мейозе II происходит их редукция (Viera et al., 2009).

Во время пахитены у самцов *G. italicum* аутосомы видны как биваленты. В диплотене и диакинезе в аутосомных бивалентах видны одна или две хиазмы. X- и Y-хромосомы во время пахитены и диплотены видны как единое гетеропикнотичное тельце хроматина (половой бивалент), но в диакинезе X- и Y-хромосомы де-

конденсируются, теряют гетеропикнотичность и превращаются в униваленты. На экваторе веретена в метафазе I хромосомы X и Y лежат далеко одна от другой, и в анафазе I расходятся их сестринские хроматиды. Во время метафазы II несестринские хроматиды X и Y контактируют между собой, как пишут авторы, по принципу «touch-and-go», и в сперматоцитах 2-го порядка расходятся (редукционно) в разные клетки (Viera et al., 2009). Необходимо подчеркнуть, что X- и Y-хромосомы у *G. italicum* ахиазматичны, на экваторе деления лежат порознь, и поэтому их ауто-ориентация и эквационное деление — естественные явления, не вызывающие вопросов о причинах.

## Решённые и нерешённые вопросы

**Установленные факты.** В результате экспериментов с растениями из семейств Surugaceae и Juncaceae, гетерозиготными по структурным перестройкам холокинетических хромосом, установлено, что у них действительно существует инвертированный порядок двух клеточных делений во время мейоза. В анафазе I сегрегируют сестринские хроматиды, а в анафазе II — несестринские хроматиды, то есть гомологичные хромосомы.

В профазе I инвертированного мейоза иммуноцитохимическими методами обнаружены белки рекомбинации SPO11 и RAD51, а также белки синаптонемных комплексов ASY1 и ZYP1, и под электронным микроскопом обнаружены сами эти комплексы (Ma et al., 2016). В метафазе I видны соединения гомологичных хромосом с помощью тяжёлой хроматина, квалифицирующиеся как хиазмы. Есть основания полагать, что происходит кроссинговер и функционирует синаптонемный комплекс, как и при классическом мейозе.

В профазе II происходит вторичное спаривание хроматид, на этот раз — несестринских. Они образуют «вторичные биваленты», в анафазе II расходятся, и клетки становятся истинно гаплоидными.

По такой же, как у *Luzula*, схеме проходит инвертированный мейоз у насекомых — кокцид и тлей. Однако у многих других насекомых из отряда Heteroptera инвертированный порядок событий мейоза наблюдается только в отношении половых хромосом, а аутосомы имеют обычный порядок расхождения хроматид. Мейоз у таких насекомых сочетает два типа поведения хромосом в одном хромосомном наборе.

**Нерешённые вопросы.** Пока не известен полный список белков-ферментов, участвующих в рекомбинации во время инвертированного мейоза, который был бы сравним по полноте с белками рекомбинации при классическом мейозе. Особенно интересным было бы выяснить присутствие или отсутствие позднего белка рекомбинации, аналогичного MLH1, необходимого для репарации ошибок встраивания нуклеотидов при рекомбинации. Антитела к этому белку обычно используют в опытах для маркирования локусов кроссинговера (Torgasheva et al., 2013). Но все эти недостатки в информации не препятствуют заключениям о ходе событий при инвертированном мейозе, изложенным выше.

Не хватает точного знания, каким образом микротрубочки веретена прикрепляются к множественным центромерам холокинетических хромосом, существу-

ют ли белки кинетохоров или конструкция центромерных районов ограничивается каким-то контактом микротрубочек с центромерными гистонами?

Наиболее интересными и принципиальными являются нерешенные вопросы (1) об особенностях белков, соединяющих хроматиды холокинетических хромосом, и (2) о том, за счёт каких молекулярных взаимодействий между хромосомами происходит вторичное спаривание и латеральный синапсис несестринских хроматид в профазе II мейоза.

В классическом мейозе существует непростой молекулярный механизм локальной защиты когезинов в центромерных районах хромосом, «склеивающих» центромеры сестринских хроматид в метафазе I и анафазе I от гидролиза этих белков комплексом белков-сепараз. Эта защита осуществляется белками-защитниками шугошинами — Sgo1 или Sgo2 — у разных организмов. При этом шугошины, действующие в мейозе, различаются у растений и животных (Гришаева и др., 2015). Эти белки эволюционно изменчивы, и именно в их структуре и их функции можно искать ответ на загадку о причинах расхождения сестринских хроматид в анафазе I при инвертированном мейозе. Как известно, шугошины функционируют по-разному в митозе и мейозе (Watanabe, 2005; Peters et al., 2008; Zamariola et al., 2014; Gutierrez-Caballero et al., 2012; Гришаева и др., 2015).

**Можно ли ответить на вопрос: в чем причина инверсии мейоза?** Полной информации для такого ответа пока нет. По-видимому, дело в отсутствии при инвертированном мейозе защиты прицентромерных когезинов в метафазе I от расщепления их белком сепарином (или другими «сепаразами»). Дело в том, что митоз и классический мейоз I принципиально различаются по набору структурных белков, локализованных в центромере. При митозе когезиновые кольца, соединяющие хроматиды в плечах моноцентрических хромосом, «размыкаются» протеинкиназой Polo в ходе профазы, но в центромере когезины остаются защищенными специфическим белком шугошином (Sgo), и поэтому во время метафазы митоза обе сестринские хроматиды удерживаются в соединенном состоянии на экваторе веретена и аутоориентированы (каждая хроматида ориентирована на «свой» полюс и прикреплена к нему микротрубочками веретена). Концом стадии метафазы митоза и началом анафазного движения сестринских хроматид к полюсам служит тот момент, когда шугошин инактивируется и исчезает связь между центромерами хроматид. Во время мейоза I ситуация другая. В клетках присутствует и активируется мейоз-специфический шугошин. Он остается активным во время метафазы I и анафазы I и защищает центромерные когезины от разрушения сепарином или другими ферментами (Kitajima et al., 2004; Гришаева и др., 2015). Поэтому сестринские хроматиды остаются сцепленными в области центромеры и идут вместе к одному полюсу в ходе анафазы I мейоза. К наступлению мейоза II мейоз-специфический шугошин оказывается уже израсходованным и более не синтезируется. Поэтому он не может защитить сцепление центромер сестринских хроматид, и они сегрегируют так же, как во время митоза.

Простейшее предположение состоит в том, что у организмов с холоцентрическими хромосомами происходят два взаимосвязанных явления. (1) Отсутствуют специфические мейотические шугошины, и тянущие силы веретена деления легко разъединяют сестринские хроматиды в анафазе I, поскольку отсутствует защитный фактор, обычно препятствующий их разъединению в классическом мейозе I.

(2) Концевые хиазмы между гомологами не позволяют разъединиться кроссоверным несестринским хроматидам в анафазе I мейоза. Биваленты, состоящие из несестринских хроматид, соединенные одним из концов в виде палочки, движутся к одному из полюсов (перпендикулярно оси веретена). В результате хромосомы расходятся эквационно, но обязательно в виде пар несестринских хроматид.

А затем, в мейозе II, всё происходит ещё проще: есть пары несестринских хроматид (вторичные биваленты), каждая хроматида монополярна, как это бывает всегда в мейозе II (и в митозе), и они расходятся к новым полюсам. Если эта схема правильна, то причины и механизм изменения порядка событий в «инвертированном мейозе» представляются весьма ясными. Однако их надо экспериментально доказать.

Организмы, обладающие инвертированным мейозом — хорошие объекты для специальных молекулярно-цитологических исследований. Однако их геномы, к сожалению, пока не секвенированы, а протеомы не расшифрованы, и в настоящее время невозможно провести биоинформатическое исследование их когезинов и шугошинов.

Существует большая изменчивости мейотических когезинов по сравнению с когезинами, функционирующими в митозе (Bogdanov et al., 2007; Гришаева и др., 2007). Кроме того, существуют лишь минорные структурные различия между мейотическими и митотическими шугошинами у более чем двух десятков изученных организмов (Grishaeva et al., 2016). Можно даже предполагать, что в холокинетических хромосомах во время мейоза сохраняется тот же шугошин, который есть во время митоза. Это может быть причиной его деградации тем же путём, что и в митозе и, тем самым, главной причиной эквационного характера первого деления мейоза. Помимо этой, пока гипотетической, причины эквационному разделению хромосом в мейозе I, несомненно, должно способствовать присутствие в конденсированных хромосомах в метафазе I центромерных пластинок, покрывающих большую часть тела хромосомы. Такая структура хромосом вынуждает хромосомы ориентироваться перпендикулярно оси веретена деления. Вместе с терминальными хиазмами это создает благоприятные условия для ауто-ориентации хромосом — соединения сестринских хроматид с противоположными полюсами веретена деления. Ауто-ориентация дополняет главную (предполагаемую авторами) причину инверсии мейоза — отсутствие защиты когезинов во множественных центромерах от расщепления их в метафазе I.

## Попытки ревизии представлений об инвертированном мейозе

Описание инвертированного мейоза давно вошло в мировые руководства по цитологии мейоза (Rhoades, 1961; John, 1990). Но существуют попытки ревизовать интерпретацию мейоза этого типа и считать, что инверсия порядка расхождения гомологичных хромосом существует только у половых хромосом Hemiptera и некоторых других групп насекомых и не относится к аутосомам (Viera et al., 2009). Аргументом служит отсутствие морфологических маркеров, позволяющих различать сестринские и несестринские хроматиды, что в сочетании с малым размером и конденсированным состоянием хромосом в метафазе I и II, якобы, не позволяет различать эквационный и редукционный тип расхождения хромосом в этих делениях. Однако опыты на растениях двух видов *Luzula*, гетерозиготных по хромосомным

перестройкам, описанные в данной книге, решают этот вопрос однозначно в пользу существования инвертированного мейоза. Авторы-ревизионисты (Viera et al., 2009) оговаривают свои возражения тем, что об эквационной или редукционной сегрегации хроматид можно говорить только по отношению к сегментам моноцентрических хромосом, прилежащим к центромере и не претерпевшим кроссинговера. Это замечание совершенно справедливо, и подобная оговорка широко принята в разделе о мейозе и кроссинговере во всех курсах классической генетики. Однако это замечание не осложняет признания инверсии мейоза, ибо у всех организмов с инвертированным мейозом кроссоверными являются только теломерные районы хромосом, поскольку центромерными районами, облигатно лишенными кроссинговера, являются протяженные части хромосом — от 75 до 90% их длины, — и именно эти части хромосом делятся эквационно в ходе мейоза I.

## Место инвертированного мейоза в эволюции путей полового размножения

Мейоз отличается от митоза несколькими блоками событий. В мейозе происходит массовая рекомбинация ДНК сестринских и несестринских хроматид, приводящая к единичным кроссоверам (вследствие интерференции кроссинговера), происходит спаривание и тесный синапсис хромосом, попарное соединение гомологичных хромосом хиазмами, нерасхождение сестринских центромер (и хроматид) в мейозе I, из-за чего клеточный цикл оказывается незавершенным, а репликация хромосом после первого деления мейоза — ненужной (Murrey, Szostack, 1985). Поэтому второе деление мейоза оказывается вынужденным, и только в ходе второго деления сестринские хроматиды разъединяются и расходятся в разные клетки. После этого становится возможной новая репликация хромосом (что и происходит в гаплофите у растений).

О ходе эволюции мейоза мы можем догадываться весьма условно. Вероятно, первым событием было появление диплоидности, как выгодной долговременной адаптации (Cavalier-Smith, 2000; Egel, Penny, 2007; Богданов 2008), затем появление рекомбинации гомологичных хромосом на основе более древнего механизма матричной репарации ДНК (Cavalier-Smith, 2000; Marcon, Moens, 2005). Следующим этапом можно считать появление петельно-осевой организации хромосом и белковых осей хромосом, а затем и синаптонемных комплексов как вспомогательных структур рекомбинации (Cavalier-Smith, 2000; Egel, Penny, 2007; Богданов, 2003, 2004, 2008). У растений рода *Luzula* и рода *Rhynchospora* с инвертированным мейозом есть главные элементы всех этих эволюционных приобретений, и по этим признакам они — представители главного направления (main stream) эволюции аппарата мейоза. Именно появление в ходе эволюции синаптонемных комплексов — стабилизаторов процесса формирования единичных и надежных (зрелых) хиазм между гомологичными хромосомами — должно было привести к формированию первого деления мейоза как редукционного деления хромосом (Богданов, 2003, 2008). Нерасхождение сестринских хроматид в первом делении мейоза должно было автоматически приве-

сти к появлению второго деления без предварительного синтеза ДНК, без репликации хромосом, потому что хромосомы после первого деления продолжали состоять из двух хроматид, и контрольный пункт (check point) для включения процесса репликации хромосом оставался не включенным (Богданов, 2003).

Возникают вопросы. 1. Почему же у организмов с холоцентрическими хромосомами возникла инверсия порядка расхождения несестринских и сестринских хроматид? 2. Неужели эта инверсия была вторичной?

Да, инверсия мейоза — вторична, и пояснение следует (а на первый вопрос ответ дан в разделе о смешанном типе мейоза). Предположение о том, что инвертированный мейоз — древний, исторически исходный вариант гаплоидизации диплоидных клеток, — было бы весьма упрощенным. Оно представляется несостоятельным. Оно нереалистично потому, что, как мы видели, инвертированный мейоз обладает теми же механизмами рекомбинации хромосом, что и классический мейоз (рекомбинация на основе репарации двунитевых разрывов ДНК, сложный вспомогательный механизм стабилизации рекомбинации с помощью синаптонемных комплексов), и этот механизм эволюционно-исторически, несомненно, был основой мейоза. Остаётся предположить, что инвертированный мейоз сформировался вторично. Он, по обоснованному мнению (Wrensch et al., 1993), стал довольно простым следствием приспособления холоцентрических хромосом к фундаментальным механизмам рекомбинации и тех внутриклеточных молекулярных процессов, о которых сказано в начале этого раздела. Также вторично возник партеногенез у тли *Acyrtosiphon pisum*, ибо профиль экспрессии её генома свидетельствует о присутствии у этого вида основных генов мейотической рекомбинации (Srinivasan et al., 2010, 2014).

Моноцентрические хромосомы организованы более выгодно, чем холоцентрические, более удобны для аппарата любого клеточного деления, как митоза, так и мейоза. Кроме того, когда центромера у хромосомы единственная, то это делает большую часть хромосомы доступной для рекомбинации, ибо в прицентромерном хроматине рекомбинации не бывает. Всё это вместе — признак прогрессивной организации моноцентрической хромосомы. Хромосомы с множественными центромерами могли возникнуть первично, но в ходе эволюции они сохранились лишь у архаичных организмов: чешуекрылых, тлей, червецов и щитовок, оказавшихся тупиковыми ветвями эволюции. При наличии в генеративных клетках развитого механизма рекомбинации для закрепления за полицентрическими (холоцентрическими) хромосомами эквационного первого деления мейоза, возможно, нужно было только одно: отсутствие специфического белка, защищающего когезины центромерных районов сестринских хроматид в ходе метафазы I и анафазы I от «планового» разрушения их сепарином, то есть сохранения статуса, характерного для митоза. Защитниками центромерной когезии хроматид в мейозе I служат мейотические белки-шугошины (Watanabe, 2005; Peters et al., 2008; Gutierrez-Caballero et al., 2012; Zamariola et al., 2014; Гришаева и др., 2015). Приходится предположить, что у организмов с инвертированным мейозом нет специфически мейотических шугошинов. Это можно проверить, однако надо иметь данные о полном протеоме (наборе белков) этих организмов. Согласно исследованию, выполненному в нашей лаборатории методами биоинформатики, мейотические шугошины, защищающие центромерную когезию сестринских хроматид в метафазе I и анафазе I, имеют более кон-

сервативный С-концевой мотив, чем митотические шугошины. Эта специфическая последовательность аминокислотных остатков (радикалов в полипептидной цепи) обогащена аргинином (по крайней мере, у позвоночных) и имеет повышенную способность связываться водородными связями с ДНК (Grishaeva et al., 2016). Может быть, именно поэтому мейотические шугошины (как SGO1, так и SGO2), содержащие этот аминокислотный мотив, прочнее связаны с центромерной ДНК (в классическом мейозе), и эта связь защищает шугошин, а тем самым и когезин, от деградации в метафазе I. Если холоцентрические хромосомы лишены мейоз-специфичного шугошина, тогда они вынуждены подчиняться законам митоза и не могут предотвратить разъединения сестринских хроматид в анафазе I и эквационной сегрегации хромосом. Это — ответ на второй вопрос, заданный выше.

Но почему после мейоза I у организмов с инвертированным мейозом не начинается новый цикл репликации хромосом и мейоз II наступает после короткого интеркинеза? Остаётся предположить, что попарное соединение *несестринских* хроматид во время интеркинеза (вторичные биваленты, Bongiorno et al., 2004; Cabral et al., 2014; Neckmann et al., 2014), описанное в этой главе, воспринимается контрольным пунктом репликации ДНК как запрет для запуска этой репликации, то есть служит таким же запретом, как сохранение после мейоза I связи двух сестринских хроматид при классическом мейозе (Murrey, Szostack, 1985). Такая причина тем более вероятна, что у организмов с инвертированным мейозом центромеры множественные, и необходимо неизмеримо больше молекул шугошина, чем для моноцентрических хромосом, чтобы заблокировать разъединение сестринских хроматид. Поэтому слабый мейотический аллель гена *SGO* мог в ходе эволюции мейоза у этих организмов привести к потере сцепленности (когезии) сестринских хроматид и к эквационному характеру первого деления мейоза. Это упрощенное предположение, но его можно проверить, как только появится расшифровка генома у организмов с инвертированным мейозом и достаточная информация о структуре их шугошинов.

В пользу вторичного происхождения инвертированного мейоза свидетельствует также вторично упрощенная общая морфология насекомых, носителей такого мейоза — кокцид.

**Вопрос о наиболее древнем типе инвертированного мейоза.** Этот вопрос решается в пользу типа Puto как наиболее универсального, базового типа мейоза. Но леканоидный тип также, несомненно, архаичен, и, возможно, таким мог быть один из прототипов мейоза у древних одноклеточных эукариот, как способ возврата от диплоидного состояния к гаплоидному без рекомбинации хромосом (Raikov, 1995; Серавин, Гудков, 1999; Cavalier-Smith, 2000; Egel, Penny 2007). Однако основной путь эволюции мейоза построен на древнем механизме рекомбинационной репарации повреждений ДНК, превратившемся в рекомбинацию гомологичных хромосом и кроссинговер. Этот путь метаболизма ДНК вместе с дополнительными структурами и явлениями (аппарат веретена клеточного деления, блокада разъединения центромер сестринских хроматид) стал основой для механизма «канонического» мейоза (Богданов, 2003, 2008; Marcon, Moens, 2005; Egel, Penny, 2007; Wilkins, Holliday, 2009).

## Глава 14.

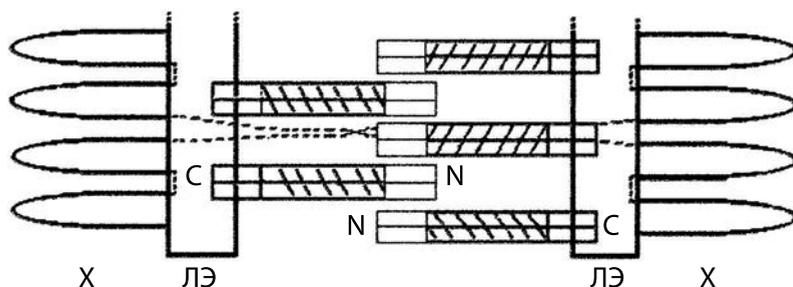
# Консерватизм и изменчивость белков синаптонемного комплекса

Синаптонемные комплексы (СК) временно соединяют гомологичные хромосомы в профазе I и создают условия для точного и равного кроссинговера и его интерференции. Белки СК обладают 60–80%-ной гомологией в пределах класса млекопитающих, но отличаются от белков СК у грибов, насекомых и растений, однако их доменная организация и конформация аналогичны. Таким образом, негомологичные белки СК выполняют в разных таксонах одинаковые функции. Именно сходство высших уровней организации специфических белков мейоза позволяет им формировать аналогичные субклеточные структуры и создавать сходство цитологической структуры и функции мейотических клеток. Конструкция СК у разных организмов зависит от физической длины нуклеопротеидных филаментов, образованных 3'-концами одонитевой ДНК в сайтах двуниевых разрывов ДНК и покрытых чехлом из молекул белков Rad51 или Rad51 и DMC1. В организации СК большую роль играет самосборка его структурных белков.

У одноклеточных эукариот с размерами хромосом свыше  $10^7$  пар нуклеотидов, организованных сложнее, чем у *A. nidulans* и *S. pombe*, хромосомные оси (линейные элементы хромосом) соединяются попарно с помощью белковой «застежки-молнии» в двухосевую структуру, именуемую синаптонемным комплексом (сокращенно СК или SC в английской транскрипции, от греческих слов «synaptos» — соединенный и «nema» — нить). Белковые хромосомные оси превращаются в латеральные элементы (ЛЭ) этой новой билатеральной структуры. Попарное соединение белковых осей происходит во время профазы I мейоза и является механизмом синапсиса (тесного соединения) хромосом. Роль «застежки-молнии» у дрожжей *S. cerevisiae* выполняет белок Zip1 (рис. 14.1).

Соединение перекрывающихся зубцов «застежки» выглядит под электронным микроскопом как третья, центральная, полоса (рис. 14.2 и 14.3) и именуется центральным элементом СК, а хромосомные оси, попарно соединенные в СК, носят название его латеральных элементов. Едва ли не единственным исключением является нематода *Caenorhabditis elegans*, у которой нет выраженного центрального элемента (Goldstein, 1985). СК существует ограниченное время и только во время стадии пахитены классического мейоза и распадается путем постепенного «демонтажа» в ходе стадии диплотены (Fedotova et al., 1989; Коломиец и др., 2001, Симановский и др., 2014).

Когда (в 50-е годы XX века) в практику цитологии вошла электронная микроскопия, исследователи впервые увидели под электронным микроскопом, что якобы пустая щель между конъюгирующими гомологичными хромосомами структурирована. Эта субмикроскопическая структура (ультраструктура) оказалась весьма сложной и одинаковой в сперматоцитах у речного рака *Cambarus clarkii* (Moses, 1956) и



**Рис. 14.1.** Схема формирования поперечных филаментов (зубцов застёжки-«молнии») из димеров интермедиатных белков в центральном пространстве синаптонемного комплекса.

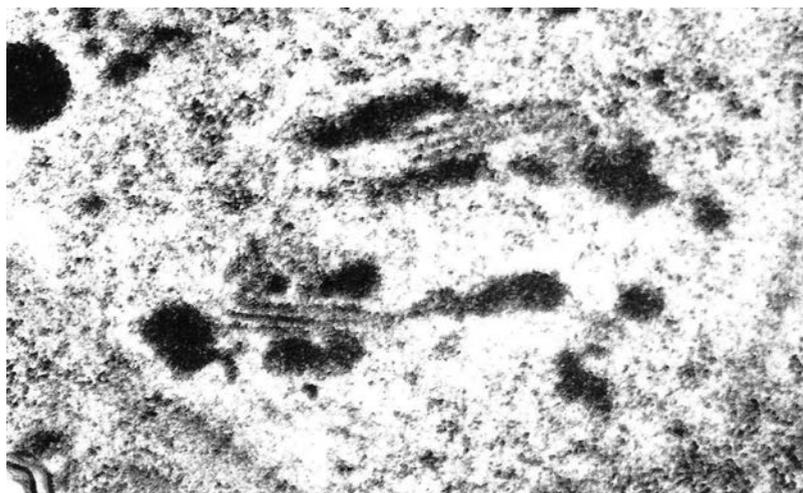
У *S. cerevisiae* это белок Zip1, у млекопитающих — SCP1. С и N — соответствующие концы белковых молекул; Х — условное обозначение петель хроматина; ЛЭ — латеральный элемент СК. По: Богданов и др. 2002а, б.

у домовой мыши (Fawcett, 1956), Структура была названа синаптонемным комплексом (СК, см. выше). По мере накопления данных стало ясно, что у разных эукариот от дрожжей до человека план строения СК одинаков, хотя размеры и детали тонкой структуры бывают видоспецифичными (Zickler, Kleckner, 1999).

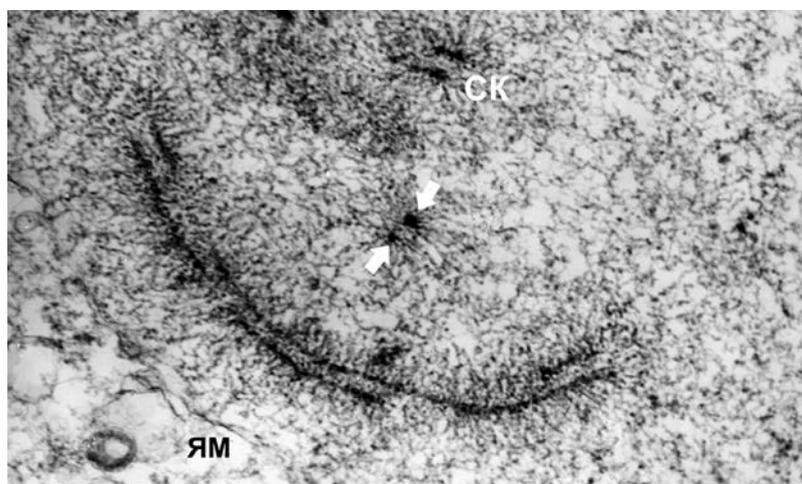
СК обнаружен в профазе I мейоза у многих сотен видов из всех царств эукариот, начиная с одноклеточных водорослей, грибов и протистов и включая всех изученных многоклеточных (рис. 14.2). Есть единичные исключения, связанные с полом, и о них специальная речь в главах 3, 4 и 10–13. Структуре и функциям СК посвящено множество обзорных публикаций (Moses, 1968; Богданов, 1971, 1975; von Wettstein et al., 1984; Raikov, 1995; Zickler, Kleckner, 1999; Börner et al., 2004; Page, Hawley, 2004, Gerton, Hawley, 2005; Богданов, Коломиец, 2007, и др.).

Детальная ультраструктура СК изучена у десятков биологических видов, представителей разных царств, однако состав его молекулярных компонентов — в основном, у «модельных» организмов: аскомицета *S. cerevisiae*, нематоды *Caenorhabditis elegans*, домовой мыши, лабораторной крысы, человека и в меньшей степени — у *Drosophila melanogaster*, растений *Arabidopsis thaliana*, *Zea mays* и одного из видов хомячков (Heuyting, 1996; Пенкина и др., 2002; Page, Hawley, 2004). Знания о белках, формирующих СК у разных организмов, существенно пополнились в начале XXI в. благодаря секвенированию геномов и аннотированию белков на основе методов биоинформатики (Гришаева, Богданов, 2013; Grishaeva, Bogdanov, 2014).

Исследовать СК одноклеточных организмов сложнее, чем СК многоклеточных, из-за малых размеров этих организмов и разнообразных особенностей их жизненных циклов. Но археаскомицеты *S. pombe* (класс Taphrinomycetes) и низшие аскомицеты *S. cerevisiae* (класс Endomycetes) оказались удачными моделями для изучения эволюции мейоза. Эти представители довольно большого отдела аскомицетов, несмотря на широкую изменчивость и быструю потерю и приобретение новых генов, не вышли из рамок своей биологии и остались древней консервативной груп-



**Рис. 14.2.** Электронно-микроскопическая фотография ультратонкого среза клеточного ядра сперматоцита свиной аскариды *Ascaris suum*. Видны продольные срезы синаптомемных комплексов и окружающие их хромеры — глыбы плотного хроматина. Оригинал.



**Рис. 14.3.** Синаптомемные комплексы в ядре сперматоцита домашней мыши. Это ультратонкий срез, поэтому при повороте длинного СК («твист») один из латеральных элементов не попадает в срез. Двумя белыми стрелками указан поперечный срез другого СК, и видны только его латеральные элементы неравной толщины. Выше белыми буквами указан короткий срез третьего СК. Вокруг всех СК видны срезы латеральных петель хроматина. ЯМ — ядерная мембрана. ЭМ фотография Е.М. Горнунг из архива Лаборатории цитогенетики ИОГен РАН.

пой (Dujon, 2006). Важно, что в этой группе сумчатых аскомицетов произошла дивергенция по признакам мейоза: *S. pombe* и *S. cerevisiae* имеют одинаковые размеры геномов (около  $10^8$  п.н.), но у *S. pombe* есть только линейные элементы хромосом, а у *S. cerevisiae* — полноценный СК. При этом у *S. pombe* гаплоидное число хромосом — 3, а у *S. cerevisiae* — 16. В дальнейшем изложении мы опираемся, в основном, на данные, полученные при изучении СК у *S. cerevisiae*, высших растений и млекопитающих, используя то обстоятельство, что схема организации и ультраструктурная морфология СК у них не различаются (Wettstein et al., 1984) и что существуют ряды гомологичной (мутационной) изменчивости СК, аналогичные Вавиловским рядам гомологичной изменчивости (Богданов, 2003, 2004; Bogdanov et al., 2007).

Относительно функций СК существует несколько предположений, и при этом ни одно из них не исключает других. Каждое из них имеет какие-то подтверждения и не имеет опровержений; по-видимому, все они справедливы. Основной вопрос, который остается решить, состоит в том, какая из этих функций была первичной в ходе эволюции. Порядок изложения этих функций изменен по сравнению с предыдущей публикацией (Богданов, 2008).

**Функция 1.** СК участвует в организации профазной мейотической хромосомы. Осевые элементы хромосом (на стадиях лептотены и зиготены мейоза) служат идеальными осями, а СК на стадии пахитены — каркасом, к которому крепятся петли хроматина. Поскольку СК располагается по оси пахитенного бивалента, то возникает билатеральная организация бивалента гомологичных хромосом: петли хроматина располагаются по обе стороны от 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 взаимного узнавания локусов гомологичных хромосом и обеспечить достаточную точность (гомологию) рекомбинации в мейозе. Такую роль СК в механизме взаимного «узнавания» гомологичных локусов, их синapsиса (тесного латерального контакта) и кроссинговера признают авторы всех современных моделей организации мейотической хромосомы (Stack, Anderson, 2001; Дадашев и др., 2005; Kleckner, 2006).

**Функция 2.** СК необходим для формирования хиазм. Обоснованием этого служит то, что СК не формируется у тех видов низших эукариот (например, у *S. pombe* и *A. nidulans*), у которых нет хиазм (Roeder, 1997; Zickler, Kleckner, 1999). Участвуя в формировании хиазм, СК создает интерференцию кроссинговера, т.е. ограничивает число событий кроссинговера, а именно: в результате интерференции эти события могут происходить не ближе одно от другого, чем на определенном расстоянии генетической и физической карты хромосом. Интерференции кроссинговера нет ни у *S. pombe*, ни у *A. nidulans*. Интерференция кроссинговера (но не сам кроссинговер) исчезает у мутантов *zip1 S. cerevisiae*, у которых нарушено формирование СК (Tung, Roeder, 1998). При инверсии или транслокации интерференция кроссинговера и хиазм у мыши и кукурузы снижается и даже меняет знак (т.е. локусы кроссинговера сближаются) около точки разрыва хромосом, 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 внутри себя рекомбинационные узелки (РУ) — субмикроскопические структуры, содержащие комплексы ферментов рекомбинации, — и РУ по какой-то причине не могут располагаться вдоль СК ближе, чем расстояние интерференции. Причина «интерференции» самих РУ остается загадкой. Формирование и сохранение хиазм до начала анафазы I мейоза и регуляцию распределения хиазм по хромосоме можно назвать генетической функцией СК. Любая пара гомологичных хромосом может правильно сегрегировать в мейозе I *только при условии*, что в ней формируется и сохраняется до начала анафазы I хотя бы одна хиазма. В противном случае с высокой вероятностью возникает анеуплоидия по данной хромосоме.

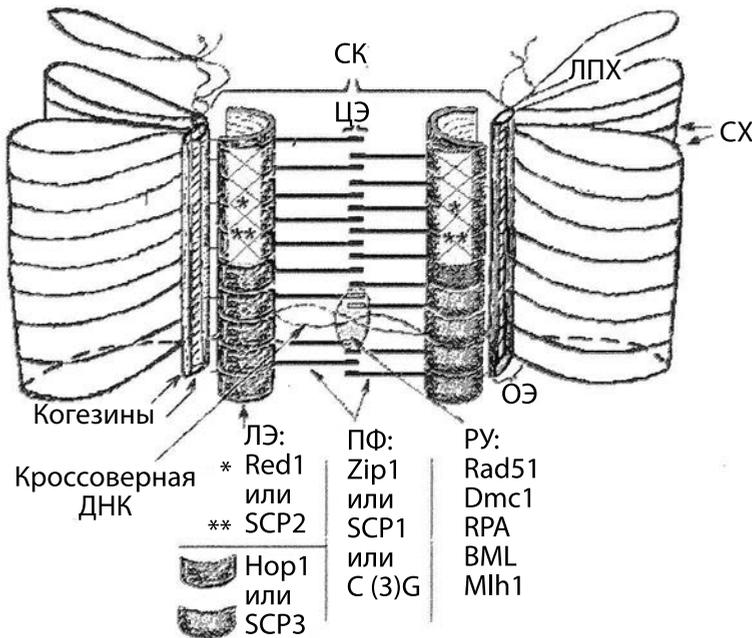
**Функция 3.** СК нужен для того, чтобы гомологичные хромосомы при спаривании не соединялись бы необратимо, как в ядрах клеток слюнных желез у дрозофилы и других Diptera (где гомологи синаптированы), но сохраняли бы возможность разойтись в анафазе I мейоза. Таким образом, СК не только соединяет гомологичные хромосомы, но при этом не дает им «склеиться», удерживая их на расстоянии 70–120 нм, достаточном для работы RecA-подобных белков (Rad51, Dmc1), «посредников» при кроссинговере (Богданов, 1975). Обратимость синапсиса абсолютно необходима, ибо иначе гомологичные хромосомы не смогли бы расходиться к разным полюсам, и вместо редукции числа хромосом происходила бы их политенизация. Обратимость синапсиса реализуется во время стадии диплотены. На этой стадии СК распадается во всех локусах, кроме локусов хиазм (Rasmussen, Holm, 1978; Kundu, Bogdanov, 1979; Fedotova et al., 1989). Гомологичные хромосомы, взаимно оттолкнувшиеся во всех локусах, кроме локусов хиазм, выстраиваются в виде бивалентов на экваторе веретена в метафазе I. Они готовы разъединиться и разойтись к полюсам, как только освободятся от хиазм.

Итак, СК стали морфозом высшего порядка в эволюции одноклеточных эукариот, обеспечившим новую, прогрессивную клеточную организацию. Тип деления клетки, использующий СК в качестве структуры, которая обеспечивает надежную организацию кроссинговера и хиазм, попарное соединение хромосом, а затем редукцию их числа, стал основной формой клеточного деления в половом процессе во всех царствах эукариот. Этот тип деления мы называем классическим мейозом. Следует добавить, что ограничение числа событий кроссинговера на каждую пару хромосом, обусловленное интерференцией, — тоже положительное явление. Чрезмерная частота кроссинговера — не столько «благо» комбинаторики, сколько угроза стабильности адаптационно выгодных фенотипов. Эти вопросы специально обсуждаются в других публикациях (Богданов, 2003 и цитируемая там литература).

СК стали ароморфозом (термин А.Н. Северцова, применяемый нами к одноклеточным организмам) в эволюционном развитии одноклеточных организмов (Богданов, 2003, 2008). Эта новация сохранилась и при появлении многоклеточных эукариот. С появлением многоклеточности и специализации клеток, а затем тканей, функция размножения локализовалась в специализированных генеративных клетках, которые сохранили СК как выгодное приобретение одноклеточных эукариот.

## Эволюционная загадка белков синаптонемных комплексов и ее решение

Белки, из которых сформированы СК дрожжей *S. cerevisiae*, не имеют гомологии первичной структуры с белками СК нематоды *C. elegans*, дрозофилы, млекопитающих и растений. Это не удивительно, ибо эволюционное расстояние между млекопитающими и сумчатыми грибами велико. Известно, что при общем одинаковом плане строения СК в этих и других таксонах ширина и тонкая структура центрального пространства СК и ультраструктура его латеральных элементов специфичны для отрядов или классов, но сильно различаются у таксономических типов (Zickler, Kleckner, 1999; Пенкина и др., 2002). Например, у дрожжей и нематод ширина центрального пространства СК (расстояние между латеральными элементами) — порядка 70 нм,



**Рис. 14.4.** Схема строения синаптонемного комплекса (СК).

ЦЭ — центральный элемент, ЛЭ — латеральный элемент, ОЭ — осевой элемент непарной (лептонемной) хромосомы, ЛПХ — латеральные петли хроматина, СХ — сестринские хроматиды, ПФ — поперечные филаменты (застежка-молния), РУ — рекомбинационный узелок. Hop1, Red1, Zip1 — белки дрожжей *S. cerevisiae*; SCP1, 2, 3 — белки синаптонемных комплексов млекопитающих и человека; C(3)G — белок поперечных филаментов СК *D. melanogaster*. Под обозначением РУ выписаны символы основных ферментов рекомбинации, обнаруженных иммуноцитохимически в рекомбинационных узелках. По: Богданов, 2003, с изменениями.

а толщина латеральных элементов СК — около 15 нм. У птиц это соответственно 150 и 25 нм (Wettstein et al., 1984). Эти цифры служат соответственно нижним и верхним пределами поперечных размеров СК для всех эукариот. Размеры СК насекомых и млекопитающих соответствуют средней зоне этого интервала. У насекомых центральное пространство СК решетчатое, а у высших растений и млекопитающих весьма аморфное. У трех видов грибов *Ascobolus* имеется видоспецифичная поперечная исчерченность латеральных элементов СК и, вероятно, видовая специфичность формирующих их белков (см. Богданов, 1975). Все это говорит о том, что в макроэволюционном плане видовая ультраструктура СК — нейтральный признак.

Удивительно, что для построения СК, имеющего одинаковый план строения и выполняющего одинаковые функции, в эволюционно далеких таксонах используются структурно негомологичные белки (табл. 14.1, рис. 14.4).

Таблица 14.1.

Белки синаптомемных комплексов (СК) эукариот. Указаны функциональные домены в тех случаях, когда они известны, и количество аминокислот (а.к.) в белке.

Белки центрального пространства СК			Белки латеральных элементов СК и прочие белки СК		
Обозначение белка	Функциональные домены белка*	Длина молекулы, а.к.	Обозначение белка	Функциональные домены белка*	Длина молекулы, а.к.
Zip1 Sc**	SMC бактериальный, Smc, AAA_13	875 а.к.	Hop1 Sc	HORMA	605 а.к.
ZYP1a At	Два бактериальных SMC	871 а.к.	Red1 Sc	Rec10/Red1	827 а.к.
ZYP1b At	Два бактериальных SMC, PRK00409	856 а.к.	Hop1 Sp — компонент линейного элемента	RING finger	528 а.к.
C(3)G Dm	Два бактериальных SMC	744 а.к.	Rec10 Sp — компонент линейного элемента	Rec10/Red1	791 а.к.
CORONA Dm	—	207 а.к.	ASY1 At	HORMA, SWIRM	596 а.к.
SYP-1 Ce	Smc	489 а.к.	ASY2 At	HORMA	1399 а.к.
SYP-2 Ce	—	213 а.к.	C(2)M Dm	Rad21_Rec8_N когезиновый	570 а.к.
SYP-3 Ce	SGNH_plant_ lipase_like	224 а.к.	HIM-3 Ce	HORMA	291 а.к.
SYP-4 Ce	—	605 а.к.	SYCP2 Dr	—	995 а.к.
SYCP1 Dr	SCP-1	537 а.к.	SYCP3-like Dr	COR1	240 а.к.
SYCE1-like Dr	—	206 а.к.	SC65 Dr — synaptonemal complex protein	proC2_суп бактериальный	426 а.к.

Таблица 14.1. (окончание)

Белки центрального пространства СК			Белки латеральных элементов СК и прочие белки СК		
Обозначение белка	Функциональные домены белка*	Длина молекулы, а.к.	Обозначение белка	Функциональные домены белка*	Длина молекулы, а.к.
SYCE2 Dr	—	187 а.к.	SYCP2 Mm	COG4399 бактериальный	1500 а.к.
TEX12 Af	—	135 а.к.	SYCP3 Mm	COR1	254 а.к.
SYCP1 Mm	SCP-1	993 а.к.	SC65 Mm — synaptonemal complex protein	—	443 а.к.
SYCE1 Mm	SMC бактериальный	329 а.к.	FKBP6 Mm — пептидил-пролил цистранс-изомераза	FKBP_C, TPR	327 а.к.
SYCE2 Mm	—	177 а.к.			
SYCE3 Mm	—	88 а.к.			
TEX12 Mm	—	123 а.к.			

\* по результатам работы программы CDART.

\*\* Sc, Sp — дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*, Dm — насекомое *Drosophila melanogaster*, At — растение *Arabidopsis thaliana*, Ce — нематода *Caenorhabditis elegans*, Dr, Af — рыбы *Danio rerio* и *Anoplopoma fimbria*, Mm — млекопитающее *Mus musculus*. Домены SMC, Smc, SCP-1, COR1, RAD21 характерны для белков, структурирующих хромосомы. Домен NORMA узнаёт состояние хроматина и способствует взаимодействию с другими белками. PRK00409 участвует в рекомбинации. Цис-транс изомеразы катализируют изомеризацию белковых молекул при наличии в них двойных связей. Остальные домены не имеют отношения к мейозу.

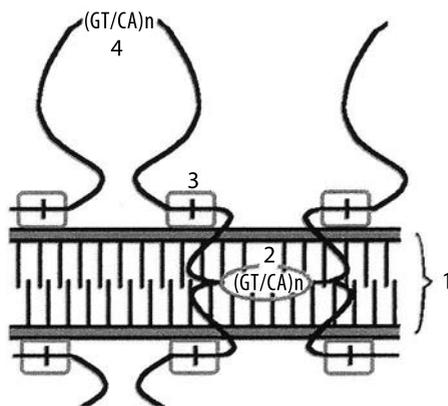
Можно провести аналогию принципа построения СК у разных организмов с принципом построения домов разного размера, из разных материалов и для разного климата, но спланированных по единому принципу (есть стены, крыша, окна) и выполняющих одинаковую функцию — служить укрытием для их обитателей. Так же и СК служит «домом», убежищем для рекомбинирующих сайтов хромосом. Важно, чтобы СК выравнял параллельно лежащие гомологичные хромосомы, сохранял между ними пространство (центральное пространство СК), в котором происходит рекомбинация ДНК, и сохранял бы эти условия столь долго, сколько необходимо для завершения рекомбинации и формирования хиазм (рис. 14.5).

Интересно, что при формировании СК у эволюционно далеких организмов, таких, как дрожжи *S. cerevisiae* и млекопитающие, используются «стандартизированные» элементы конструкции (Богданов, 2003). Одинаковую конструкцию имеют, например, соединенные зубцы застежки-молнии. Их морфологическое название — поперечные филаменты СК, а в терминах нашего аллегорического сравнения они играют роль «распорок» или «балок», соединяющих «стены дома» (т.е. латеральные элементы СК). Они состоят из довольно простых белков. У дрожжей это белок Zip1, у млекопитающих — SCP1 (SYCP1). Эти белки относятся к классу интер-

медиатных белков. Каждый из этих белков содержит три полипептидных домена. С- и N-концевые домены имеют квазиглобулярную форму; центральный домен — палочковидную форму за счет протяженной линейной суперспирали (coiled coil), то есть вторично спирализованной  $\alpha$ -спирали. При этом обнаружена высокая корреляция между длиной этого палочковидного домена и расстоянием между латеральными элементами СК. Это правило оправдывается не только в отношении организмов «дикого типа», но и для серии мутантов дрожжей с делециями внутри палочковидного домена (Tung, Roeder, 1998; см. также Богданов и др., 2002б). Высокая и достоверная корреляция длины палочковидного домена и ширины центрального пространства СК ( $r = 0,97$ ,  $p < 0,001$ ) свидетельствует о причинной зависимости между длиной центрального домена этих белков и расстоянием между латеральными элементами СК (Богданов и др., 2002а). Аналогия вторичной и третичной структур белков, формирующих поперечные филаменты СК у дрожжей (Zip1) и млекопитающих (SCP1/SYCP1), и указанная выше корреляция позволили нам предположить, что эти принципы распространяются на организмы из других таксонов. Пользуясь этой аналогией, удалось установить, что поперечные филаменты СК у *D. melanogaster* формируются из белка-продукта гена *CG17604* (он же — давно известный ген *c(3)G*). Положительный результат компьютерного поиска гена *c(3)G* (Grishaeva et al., 2001; Богданов и др., 2002а; Bogdanov et al., 2003) совпал с результатом экспериментального поиска нуклеотидной последовательности гена *c(3)G* методами молекулярной цитогенетики (Page, Hawley, 2001). На основе стратегии компьютерного поиска, предложенной Богдановым и др. (Bogdanov et al., 2003), был предпринят экспериментальный поиск белка поперечных филаментов у растения *Arabidopsis thaliana*, аналогичного белкам Zip1 дрожжей, SCP1 млекопитающих и *C(3)G* дрозофилы.

Предсказанный нами (Богданов и др., 2002) белок, как показал эксперимент, оказался ошибочным, но с помощью той же стратегии был найден истинный белок поперечных филаментов СК у арабидопсиса — ZYP1 (Higgins et al., 2005).

Предложенная стратегия поиска сыграла стимулирующую роль для постановки эксперимента. Изучение структуры СК продолжается, и у модельных организмов



**Рис. 14.5.** Условное изображение модели организации синаптонемного комплекса (СК) и петель хроматина несестринских хроматид в пахитенном биваленте.

1 — СК; 2 — ранний рекомбинационный узелок в центральном пространстве СК; 3 — ДНК-белковый комплекс, состоящий из *Alu*-повторов и белков SMC и SCP2-SCP3; 4 — повторы типа (ГТ/ЦА) в латеральных петлях хроматина. По: Дадашев и др., 2005.

выявляются частные детали, например, минорные белки, укрепляющие зубцы «застёжки» у нематоды *C. elegans* и дрозофилы (глава 10, а также Anderson et al., 2005; Lui, Coloiacovo, 2013). Кроме того, выясняется, что у некоторых модельных объектов структура синаптонемного комплекса отклоняется от традиционной.

Шмекель и Данехолт в 1995 г. (Schmekel, Daneholt, 1995) на трёхмерной картине СК обнаружили не только поперечные филаменты, но и связывающие их и расположенные перпендикулярно к ним некие структуры, названные пилларами (pillars). Наличие дополнительных белков в центральном пространстве было предсказано ещё в 1996 г. (Liu et al., 1996), но лишь в 2005 г. у мыши были открыты небольшие белки, по-видимому, входящие в состав этих пиллар — SYCE1 и CESC1 (названный позже SYCE2) (Costa et al., 2005). За ними последовали TEX12 мыши (Hamer et al., 2006) и CORONA у дрозофилы (Page et al., 2008). Было показано, что TEX12 человека образует комплекс с SYCE2 (Davies et al., 2012). Наконец, совсем недавно был найден SYCE3 мыши (Schramm et al., 2011), и это, по-видимому, не последний белок из этого ряда. У ржи также предполагается наличие дополнительного белка, объединяющего фибриллы, состоящие из белка ZYP1 (Михайлова и др., 2010). Как указано в главе 10, у нематоды *Caenorhabditis elegans* обнаружено, по крайней мере, четыре белка, локализованных в центральном пространстве СК: от SYP-1 (MacQueen et al., 2002) до SYP-4 (Smolikov et al., 2009). Из них только SYP-3 контактирует с латеральным элементом СК (Smolikov et al., 2007, 2009). Белком поперечных филаментов в традиционном смысле можно назвать только белок SYP-1, который может образовывать гомодимеры (Schild-Prufert et al., 2011) и удовлетворяет другим требованиям к белкам этой группы, изложенным выше. Четыре белка SYP собираются в тетрамер, составленный из двух стабильных димеров: SYP-1+SYP-2, SYP-3+SYP-4. Это, пожалуй, уникальный случай, когда четыре небольших белка вместе составляют пару поперечных филаментов (Schild-Prüfert et al., 2011; Hawley, 2011). У дрозофилы, отличающейся своеобразием многих процессов, организация центрального пространства СК тоже необычна (Hawley, 2011).

Почти все белки поперечных филаментов СК, как и ожидалось, обладают трёхдоменной «конструкцией» и одинаковой вторичной и третичной структурой полипептидных блоков (доменов), хотя первичная структура этих белков у арабидопсиса, дрожжей и крысы не имеет сходства.

Факты, приведенные выше, означают, что в процессе эволюции гены и белки СК возникали независимо у предков современных эукариот, давших начало разным крупным ветвям многоклеточных организмов (растениям, грибам и животным). Отбор белков, формирующих поперечные филаменты СК (они же зубцы застёжки-молнии), вероятно, шел по трем параметрам: 1) белок должен был быть «интермедиатным»: волокнистым, способным что-то соединять; 2) он должен был иметь на С-конце такие заряды, которые способны формировать ионную (солевою) связь с ДНК (С-концевые домены этих белков должны быть основными, с изоэлектрической точкой — pI — не ниже 9); 3) на N-конце белка должны быть заряды, пригодные для белок-белкового взаимодействия с молекулой-партнером (Bogdanov et al., 2003, 2007), т.е. для соединения двух зубцов застёжки-молнии (см. рис. 14.1). В отношении длины молекулы белка фактором отбора служили, вероятно, требования более древнего, чем мейоз и СК, молекулярного механизма рекомбинации. Суммарная длина двух соединившихся белковых «зубцов» не должна превышать длину одноцепочечного конца ДНК, одетого «чехлом» RecA-подобного белка (т.е. Rad51),

ибо длина этого нуклеопротеидного филамента определяла допустимое расстояние, на котором может происходить его инвазия в другую молекулу ДНК. Эти требования можно иллюстрировать схемой на рисунке 6 из статьи Голубовской с соавторами (Golubovskaya et al., 2006). Этот рисунок можно использовать для объяснения гипотезы о том, что если расстояние между латеральными элементами СК превышает определённый предел (например, 150 нм), то интермедиаты рекомбинации — одностранные концы ДНК, одетые «чехлом» из десятков молекул белка Rad51, — не смогут переброситься в несестринскую хроматиду, и не состоится инвазия одноцепочечного конца ДНК в гомологичную хромосому. В итоге в данном сайте не произойдет кроссинговер и не сформируется хиазма. Полагаем, что перечисленные выше три условия определили размеры (длину зубцов) застёжки-молнии в СК, т.е., были селективным фактором в отборе белков, пригодных для этой цели в разных ветвях эволюции многоклеточных эукариот.

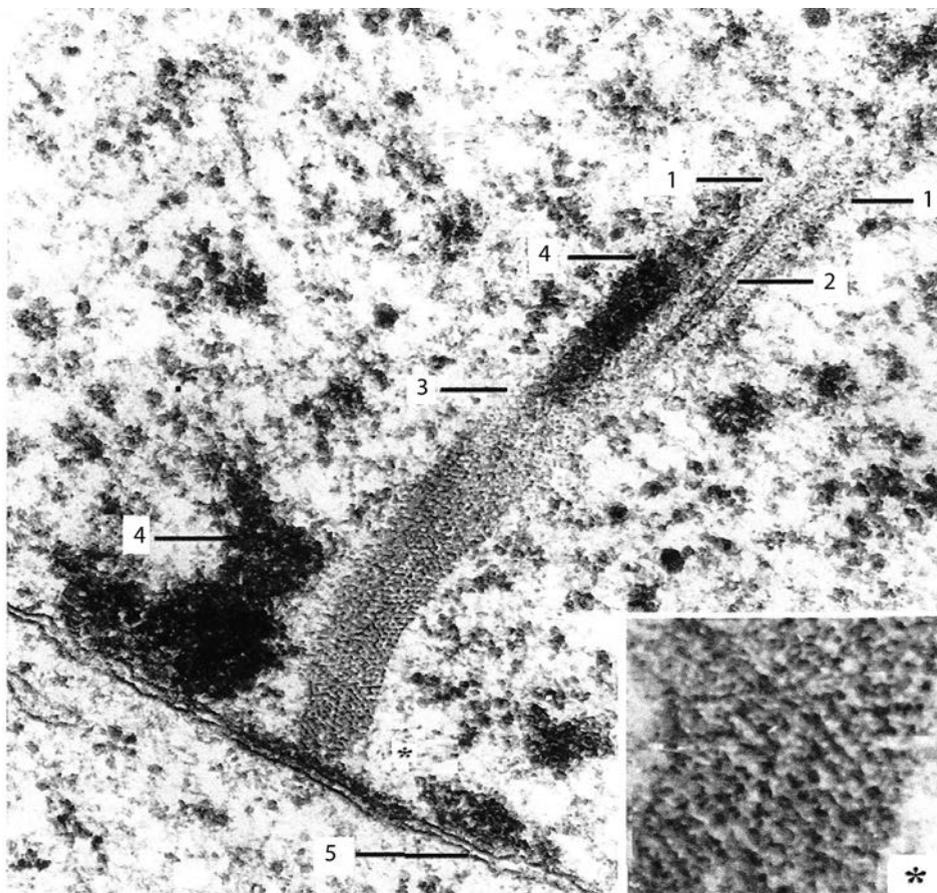
А что служило селективным фактором для отбора белков, формирующих длинные и эластичные латеральные элементы СК? Чем определялись требования к «строительному материалу» латеральных элементов СК? Попробуем ответить на эти вопросы, хотя бы в общем виде.

## Самосборка простых белков — принцип построения синаптонемного комплекса

На рис. 14.6 представлено уникальное изображение среза СК сверчка *Achaeta domestica*. В объеме этого среза (толщина 70–80 нм) СК совершил поворот вокруг продольной оси, и часть среза прошла вдоль центрального элемента СК. Решетчатый центральный элемент хорошо виден в нашем Приложении на рисунке к главе 14. При сравнении этих двух почти соседних срезов из серии срезов одного и того же образца видно, что центральный элемент состоит из стандартных субъединиц, напоминающих белковые субъединицы оболочки вируса. В нашем случае это срезовые субъединицы центрального элемента СК. Как соединяются между собой белки-звенья центрального элемента?

Принцип соединения белковых субъединиц внутриклеточных структур давно известен в молекулярной биологии. В одном из изданий руководства по молекулярной биологии Б. Альбертса с соавт. (1986) он описан следующим образом: «Принцип, позволяющий белковым доменам ассоциировать <...>, «работает» и при сборке <...> клеточных структур. Надмолекулярные структуры, такие как ферментные комплексы, рибосомы, белковые волокна, вирусы и мембраны, не синтезируются в виде единых гигантских молекул, связанных ковалентно, а собираются в результате нековалентных агрегаций макромолекулярных субъединиц» (Альбертс и др., 1986, с.142). В случае мейоза это прямо относится к самосборке из палочковидных доменов белков SCP1 центрального элемента СК и заполнению всего этого пространства («синаптической щели» по старым авторам) поперечными филаментами. Поперечные филаменты между латеральными элементами СК существуют даже тогда, когда у триплоидов (например, у триплоидов шелкопряда *Bombyx mori*) СК формируется между негомологичными хро-

мосомами (особенно на третьей фазе синапсиса, по Расмуссену (Rasmussen, 1977b)). Использование белковых субъединиц для построения больших структур имеет несколько преимуществ: 1) для кодирования субъединиц малого размера требуется мало генетической информации; 2) сборка и диссоциация субъединиц легко поддается контролю, ибо они связаны между собой сравнительно слабыми (нековалентными) связями. При этом складывается механизм корректирования, который в процессе сборки может устранить испорченные субъединицы (Альбертс и др., 1986).



**Рис. 14.6.** Электронно-микроскопическая фотография ультратонкого среза синаптонемного комплекса сверчка *Achaeta domesticus*.

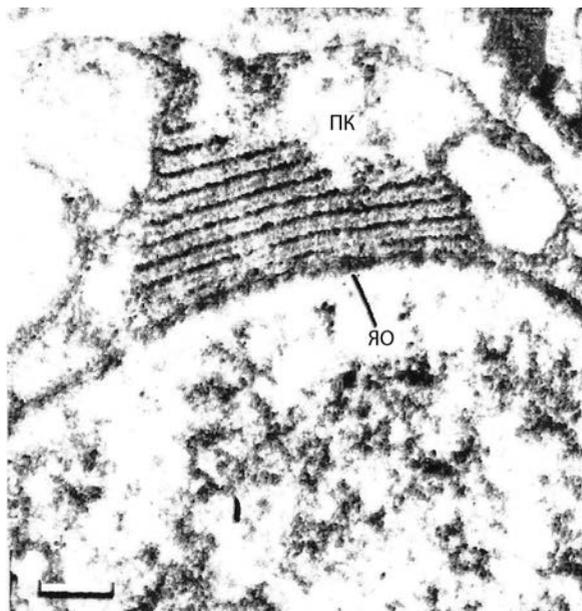
Двумя стрелками с цифрами 1 обозначены латеральные элементы СК. Левый латеральный элемент лежит почти под плоскостью среза (над ним — хроматин — 4), а правый срезан сагиттально. 2 — центральный элемент СК. Ниже стрелки 3 левый латеральный элемент делает поворот, и под стрелкой 3 виден длинный сагиттальный срез центрального элемента СК. Область с субъединицами, помеченная звёздочкой, увеличена на врезке в нижнем углу. 4 — хроматин, 5 — ядерная оболочка. Оригинал Ю.Ф. Богданова и Ю.С. Ченцова.

Упомянув формулировки этих фундаментальных положений, мы обращаем внимание на то, что их можно применить для объяснения консерватизма макроструктуры СК, структуры филаментов Rad51+ДНК, а затем и всей схемы мейоза у эукариот, которая основывается на свойствах белковых молекул и нуклеопротеидных комплексов. Более того, как давно установлено в молекулярной биологии на примере самосборки вирусов, а затем и рибосом, самособирающиеся структуры могут состоять из разных белковых субъединиц и нуклеиновых кислот. В данной работе мы обращаем внимание на то, что размеры и трехмерная структура (конформация) отдельных белковых доменов могут служить строительным материалом для формирования одинаковых субклеточных структур у филогенетически далеких организмов. Это справедливо, даже если первичная структура этих доменов существенно различается, как это имеет место, когда мы сравниваем белки латеральных элементов СК дрожжей, арабидопсиса, дрозофилы и человека.

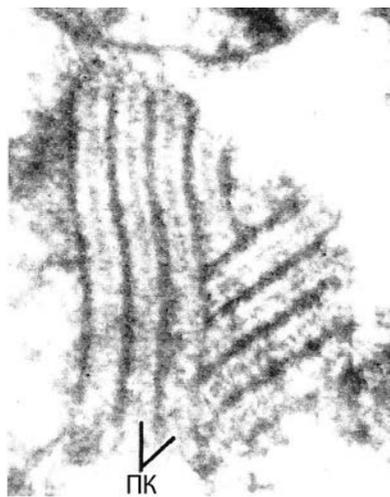
Важный пример, доказывающий существование самосборки белков и построение из них структур, подобных СК, а именно, так называемых СК-подобных поликомплексов, представлен на рис. 14.7. и 14.8. Это поликомплексы у аскариды (Bogdanov, 1977). Мы подробно описываем эти структуры в более поздней публикации (Богданов, Коломиец, 2007).

Важно обратить внимание на то, что СК-подобные поликомплексы аскариды формируются в цитоплазме без контакта с ДНК. Это означает, что процесс их сборки из белков идет «автоматически», без «направляющего» влияния высокополимерной молекулы ДНК.

Второй пример самосборки белков СК описан недавно Оллинджером и др. (Ollinger et al., 2005). Эти авторы экспрессировали ген *SCP1* мыши в гетерологичной системе, в соматических клетках COS-7. Клетки COS-7 никогда не синтезируют белки СК. Но после интеграции генетического конструкта, несущего ген *SCP1* с сильным промотором, в этих клетках появились поликомплексы, морфологически похожие на решетку центрального пространства СК, испещренную поперечными филаментами с ультраструктурой, аналогичной застегнутой застежке-молнии



**Рис. 14.7.** СК-подобный поликомплекс (ПК) в сперматоците аскариды на внешней стороне ядерной оболочки (ЯО) в цитоплазме во время стадии лептотены мейоза. Масштабная линейка — 0,25 мкм. Оригинал.



**Рис. 14.8.** Два поликомплекса (ПК) в цитоплазме у аскариды (лептотена мейоза) образуют две квазикристаллические структуры в результате самосборки их белков.  
Оригинал.

СК. Более того, эти авторы установили, что мутация, которая уменьшала длину центрального  $\alpha$ -спирального домена белка SCP1, уменьшала ширину этих поликомплексов. Удаление N- или C-концевых фрагментов белка тоже влияло на способность этих белков к самосборке.

Этот эксперимент доказал, что белок SCP1 способен к самосборке. Оллинджер и др. пришли к выводу, что самосборка белка SCP1 играет решающую роль в формировании СК в ходе мейоза в нормальных условиях (Ollinger et al., 2005).

Говоря о гипотезе самосборки белков СК, которая подтверждается экспериментальными доказательствами, мы обращаем внимание на то, что она может хорошо объяснить консерватизм схемы мейоза у эукариот. Эта схема основана на свойствах определенных белков и нуклеопротеиновых комплексов. Более того, самоорганизующиеся структуры могут состоять из разных белковых субъединиц и нуклеиновых кислот, как это наблюдается в отношении вирусов и рибосом. Мы обращаем внимание на тот факт, что белковые домены, сходные по размерам и трехмерной организации (конформации), могут служить компонентами одинаковых субклеточных структур у филогенетически далеких организмов даже в тех

случаях, когда первичная структура этих белковых доменов сильно различается.

Удивительный факт построения принципиально одинаковых СК из негомологичных белков у предельно далеких организмов — дрожжей, нематод, насекомых, млекопитающих и высших растений — наталкивает на мысль о происхождении этих ветвей эукариот от разных одноклеточных прародителей на заре становления эукариот 850 млн. лет назад. Однако есть один факт, который подсказывает вероятность их монофилетического происхождения. Дело в том, что во время самосборки белки латеральных элементов СК у перечисленных организмов адсорбируются на межхроматидной когезиновой оси, основным белком в которой служит мейоз-специфичный белок REC8. Этот белок, правда, обладает весьма умеренным сходством только в области консервативного функционального домена, он отсутствует у дрозофилы (Pasierbek et al., 2001; Гришаева и др., 2007). REC8 произошел, по-видимому, от общего предкового *соматического* когезина RAD21 (Гришаева и др., 2007). Кроме того, комплекс белков-когезинов способен служить дополнительным «прибежищем» для ферментов рекомбинации (Pelttari et al., 2001). Но, пожалуй, наиболее интересная для нас роль мейоз-специфичного когезина REC8 состоит в том, что он послужил универсальным «субстратом» для адсорбции новых белков, из которых в ходе эволюции формировались различные по ультраструктуре латеральные элементы СК у разных организмов.

Разнообразие белков латеральных элементов СК было ограничено только необходимостью их взаимодействия с ДНК. Такое взаимодействие, по-видимому, обеспечивается присутствием во многих белках латеральных элементов универсального домена NORMA. Домен NORMA интересен тем, что он узнаёт состояние хроматина и способствует взаимодействию разных белков. Этот домен характерен для белков латеральных элементов СК у организмов из разных эволюционных линий эукариот. Он есть в белках синаптонемных комплексов Hop1 дрожжей *S. cerevisiae*, ASY1, ASY2 *A. thaliana* и других растений, HIM-3 нематоды *C. elegans* и в белке NORMAD1 позвоночных животных (Гришаева, Богданов, 2013; Grishaeva, Bogdanov, 2014). Возможно, происхождение синаптонемных комплексов связано с существованием этого белкового домена (полипептида) в протеомах архаичных эукариот.

До недавнего времени считалось, во-первых, что у высших эукариот белки с доменом NORMA не участвуют в формировании СК, а во-вторых, что белки SYCP2 и SYCP3 присутствуют только у высших эукариот. Однако сравнительно недавно было показано, что белок NORMAD1 у мыши является компонентом хромосомных осей и нужен для образования синаптонемного комплекса (Shin, 2010). С другой стороны, ортолог SYCP3 млекопитающих был обнаружен в протеомах губок, пластинчатых и кишечнополостных животных (Fraune et al., 2012).

Расскажем ещё о некоторых белках СК, которые редко упоминаются в обзорах и не так известны. Они не приписаны к конкретному компоненту СК и аннотированы просто как белки СК. Одним из них является белок SC65 (синонимы: leprecan-like protein 4, Nucleolar autoantigen No55). В это семейство белков входит фермент пролил-3-гидроксилаза, катализирующий посттрансляционные преобразования пролина в белках-коллагенах. SC65 довольно широко распространён у животных — у млекопитающих, рыб, черепаха, амфибий и даже у круглых червей-аскарид (базы данных NCBI, UniProtKB). Помимо синаптонемного комплекса, локализуется также в ядрышке и в митотических хромосомах. Какова его функция в составе СК, не очень понятно.

Ещё одним компонентом синаптонемного комплекса является фермент FKBP6 — пептидилпролил цистранс-изомераза. Функция ферментов этого класса — катализ изомеризации белковых молекул при наличии в них двойных связей. На мышцах было показано, что FKBP6 нужен для поддержания мужской фертильности и гомологичного спаривания хромосом в мейозе. Локализуется он сначала в осях мейотических хромосом, потом в районах гомологичного спаривания вместе с SYCP1 (Crackower et al., 2003). Этот фермент гораздо более консервативен, чем предыдущий, ибо родственные ему белки содержатся в протеомах почти всех эукариот, а также архей и бактерий (Гришаева, не опубликовано).

Существует несколько групп (таксонов) эукариот, у которых ни домен NORMA, ни какие-либо другие белки СК пока не найдены. Это таксоны Euglenophyta, Chrysophyta, Charophyta, Xanthophyta, Dinoflagellata и примитивные Coelomata (Гришаева, Богданов 2013; Grishaeva, Bogdanov, 2014). Либо у этих организмов нет синаптонемных комплексов (как у низшего гриба *Ascobolus* и ему подобных), либо дело объясняется тем, что протеомы этих организмов очень мало исследованы и мало представлены в базах данных (что более вероятно).

## Часть IV. ЭВОЛЮЦИЯ МЕЙОЗА

### *Глава 15.*

### **Консерватизм и изменчивость ядерных блоков. Биоинформатический анализ**

Широко распространено мнение, что мейоз возник уже у первых эукариот, а сами эукариоты явились результатом симбиотических процессов с участием предков архей и бактерий. В данной главе рассматриваются данные, полученные с помощью методов биоинформатики, о возможном происхождении белков, участвующих в формировании структуры и поведения хромосом в ходе мейоза. Обнаружено, что гистоны по происхождению являются гетерогенной группой белков, при этом сходство их с прокариотическими белками невелико. Когезины SMC1 и SMC3 имеют значительное сходство с белками архей, но не бактерий. Когезины Scc3/STAG и RAD21/REC8 гетерогенны по происхождению. Большинство белков синаптонемных комплексов (СК) не имеет родственных белков в протеомах прокариот. Группа мейоз-специфичных медиаторов и ферментов рекомбинации также гетерогенна по происхождению. В целом сходство ядерных эукариотических белков с прокариотическими низкое. Детальный сравнительный анализ первичной структуры белков СК в филогенетических линиях растений и животных показал, что некоторые водоросли, низшие многоклеточные животные и даже хрящевые рыбы не имеют белков, родственных известным белкам СК модельных организмов. Сходство белков центрального пространства СК прослеживается только у хордовых. Белки латеральных элементов СК модельных эукариот имеют ортологи в протеомах водорослей, мхов, губок и других многоклеточных организмов. Для построения СК в разных филогенетических линиях эукариот используются в том числе негомологичные белки, однако они имеют сходные физико-химические свойства. Среди ключевых мейоз-специфичных белков наиболее консервативны белки, ответственные за точность мейотической рекомбинации (RecA-подобные и MLH-подобные белки), однако мейоз-специфичные эндонуклеазы SPO11, а также структурные белки мейоза — когезины и белки синаптонемных комплексов — менее консервативны. Среди структурных белков обнаружено сходство в основном в области функциональных доменов. Подтверждается идея о том, что независимые эволюционные линии многоклеточных эукариот имеют общий набор базовых мейотических белков.

Предыдущие главы дали достаточно материала для утверждения о том, что общая схема мейоза эволюционно консервативна. Цитологические картины мейоза, в основном, сходны у простейших, грибов, растений и животных, хотя некоторые детали варьируют. Однако белки, обслуживающие мейоз и формирующие ту или иную структуру, далеко не всегда консервативны, а иногда и не являются ортологами.

Ферменты рекомбинации семейства RAD51/DMC1 консервативны в той степени, которая позволяет им формировать интермедиатные молекулы из однострессовой ДНК и белка. Этот же структурный принцип действует в случае кинетохоров, белков клеточных контактов (cell gap contacts) и ядерных поровых комплексов, т.е. в тех случаях, когда для выполнения функции важны параметры трёхмерной структуры белков.

Большинство литературных источников говорит о филогенетической консервативности основных компонентов когезинового комплекса, имея в виду, прежде всего, соматические (митотические) формы (см., например, McNairn, Gerton, 2008). Но консервативность молекул SMC относительна (White, Erickson, 2009). У других когезинов (RAD21/REC8) высокое сходство существует лишь в районе домена Rec8/Rad21. Например, REC-8 нематоды *C. elegans* сходен с Rec8p аскомицета *S. cerevisiae* на 41,6% (идентичен на 17,3%) (Pasierbek et al., 2001). При этом когезиновое кольцо обладает одинаковой структурой у всех эукариот (Hirano, 2005).

Синаптонемные комплексы (СК), соединяющие в мейозе гомологичные хромосомы и служащие рамой для процессов рекомбинации, сформированы из мейоз-специфичных белков (Heyting, 1996; Пенкина и др., 2002; Anuradha, Muniyappa, 2005). Общая организация СК в большей или меньшей степени сходна у всех эукариот, изученных в этом отношении, тогда как ультраструктура отдельных его компонентов слегка варьирует (Moens, Pearlman, 1988; Zickler, Kleckner, 1999). Кроме того, нет или почти нет сходства между белками, формирующими СК у растений, грибов и животных (Smith, Roeder, 2000; Пенкина и др., 2002; Anuradha, Muniyappa, 2005). Это означает, что функциональная консервативность белков, формирующих СК, не связана с гомологией их аминокислотных последовательностей. До сих пор остаётся загадкой, как такие разные белки могут строить внутриклеточные структуры со сходной морфологией и функцией.

Из всего сказанного выше понятно, что мейотические белки представляют собой очень специфическую и неоднородную группу. Тем интереснее исследовать их не только экспериментально, но и с помощью методов биоинформатики.

## Сравнение отдельных групп ядерных белков с белками прокариот

Считается, что мейоз возник уже у первых эукариот (подробное изложение разных взглядов на эту проблему см. Богданов, 2003, 2016; Egel, Penny, 2007). А сами эукариоты явились результатом симбиотических процессов с участием предков

архей и бактерий (Margulis, Sagan, 2002; Марков, 2010). Бактерии были предшественниками митохондрий и пластид, а археи — предшественниками цитоплазмы. По поводу происхождения ядра идут дискуссии. Было высказано предположение, что эукариоты получили ядро от архей, при этом в их хромосомы были включены большие блоки бактериальных генов (Марков, Куликов, 2005; Saruhashi et al., 2008). В связи с этими данными возникает вопрос о происхождении белков, обслуживающих мейоз. Для ответа на этот сложный вопрос было проведено несколько исследований разных групп ядерных белков.

Для нескольких групп ядерных белков было проанализировано сходство с архейными и бактериальными белками (Захаров и др., 2010; Grishaeva, Zakharov, 2012). Для каждого эукариотического белка (гистона, когезина и т.д.) был использован средний показатель сходства Score (NCBI BLAST) с первыми 10 прокариотическими белками. Далее эти показатели для бактерий и архей сравнивали с аналогичным Score для случайных аминокислотных последовательностей, генерированных специальной программой на основе оригинальных белков. Достоверность различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Если Score для архей превосходил таковой для бактерий, исследуемый эукариотический белок считался родственным архейным белкам. Если наоборот, белок считался ближе к бактериальным. Если оба показателя не отличались друг от друга, считали, что исследуемый белок происходит от белков предковых прокариот.

Было показано, что гистоны по их происхождению являются гетерогенной группой. Часть из них оказалась ближе к белкам архей, хотя показатели сходства были невысокими. Другие гистоны либо похожи на белки архей, либо не имеют значимого сходства с белками прокариот (табл. 15.1). Эти данные могут свидетельствовать о том, что гистоны, даже если они имели прототипы в протеомах прокариот, претерпели значительные изменения в ходе эволюции эукариот.

Таблица 15.1.

Сходство гистонов эукариот с белками архей и бактерий.

Объект	Гистоны				
	H1	H2A*	H2B	H3*	H4*
<i>S. cerevisiae</i>	H1	H2A*	H2B	H3*	H4*
<i>S. pombe</i>	–	H2A*	H2B	H3*	H4*
<i>D. melanogaster</i>	H1***	H2A*	H2B*	H3*	H4*
<i>A. thaliana</i>	H1, H1-2*	H2A*	H2B	H3*, H3	H4*
<i>C. elegans</i>	H1	H2A*	H2B*	H3*	H4*
<i>D. rerio</i>	H1*	H2A*	H2B*	H3*	H4*
<i>M. musculus</i>	H1	H2A	H2B	H3*	H4*

\* белки, имеющие достоверно большее сходство с белками архей.

\*\*\* белки, имеющие достоверно одинаковое сходство с белками всех прокариот.

Не помечены белки, чьё сходство с белками прокариот находится на уровне такового для случайных наборов аминокислот.

Прочерк означает, что такой белок в использованных базах данных отсутствует.

В каждом столбце расположены белки-ортологи.

Для двух из четырёх основных компонентов когезинового комплекса, SMC1 и SMC3, было показано значительное сходство с белками архей, но не бактерий. Это противоречит литературным источникам, которые говорят, что эти белки имеются и в бактериальных, и в архейных протеомах (см, например, Hirano, 2005). Что касается Scc3/STAG и RAD21/REC8, то часть из них была ближе к архейным белкам, часть — к бактериальным (с невысокими показателями сходства), а часть не имела родственных белков в протеомах прокариот (табл. 15.2). Таким образом, основа когезинового комплекса построена из двух белков архейного происхождения и двух белков, которые, по-видимому, появились позднее в ходе эволюции.

Таблица 15.2.

Сходство компонентов когезинового комплекса эукариот с белками архей и бактерий.

Объект	Компоненты когезинового комплекса (митотические / мейотические)			
<i>S. cerevisiae</i>	Scc3	Scc1 / Rec8	Smc3*	Smc1*
<i>S. pombe</i>	Psc3** / Rec11	Rad21** / Rec8	Psm3*	Psm1*
<i>D. melanogaster</i>	SA1	RAD21 / –	SMC3*	SMC1*
<i>A. thaliana</i>	SCC3*	SYN1, SYN2 / REC8	SMC3*	SMC1*
<i>C. elegans</i>	SCC3	RAD21 / REC8*	SMC3*	SMC1*
<i>D. rerio</i>	STAG1*, STAG2	RAD21 / REC8	SMC3*	SMC1 / SMC1β*
<i>M. musculus</i>	STAG1**, STAG2, STAG3	RAD21* / REC8	SMC3*	SMC1 / SMC1β*

\*\* белки, имеющие достоверно большее сходство с белками бактерий.

Остальные примечания — как в табл. 15.1.

Было также проанализировано возможное сходство белков синаптонемного комплекса (СК) с белками прокариот. Белки СК не имеют значительно сходства, но обладают сходной вторичной структурой, сходными физико-химическими параметрами и выполняют сходную функцию (подробнее см. Bogdanov et al., 2007 и Главу 14). Эта группа белков оказалась гетерогенной, причём во всех случаях показатели сходства с белками прокариот были очень небольшими. Большинство же белков СК не имело родственных белков в протеомах архей или бактерий (табл. 15.3). Это был ожидаемый результат, если учитывать тот факт, что мейоз возник у эукариот.

Таблица 15.3.

Сходство компонентов синаптомембранного комплекса эукариот с белками архей и бактерий.

Объект	Белки синаптомембранного комплекса (СК)		
	Белки центрального пространства СК	Белки латеральных элементов СК	Прочие белки СК
<i>S. cerevisiae</i>	Zip1***	Hop1	
<i>S. pombe</i>	Zip1	Hop1	
<i>D. melanogaster</i>	C(3)G*, CORONA		
<i>A. thaliana</i>	ZYP1a**, ZYP1b		
<i>C. elegans</i>	SYP-1**, SYP-2, SYP-3***, SYP-4	HIM-3	
<i>D. rerio</i>	SYCP1***, SYCE1, SYCE2, TEX12#	SYCP3-like	SC65
<i>M. musculus</i>	SYCP1**, SYCE1***, SYCE2***, TEX12	SYCP2, SYCP3**	SC65

# белок TEX12 отсутствовал в базе данных белков *D. rerio*, поэтому был взят другой объект — рыба *Anoplopoma fimbria*.

Не все компоненты синаптомембранного комплекса являются ортологами.

Остальные примечания — как в таблице 15.1

Такой же гетерогенной оказалась и группа мейоз-специфичных ферментов. Ферменты, функционирующие на ранних этапах рекомбинации и репарации (DMC1, SPO11), оказались ближе к архейным белкам, а «поздний» фермент MLH4 дрожжей *S. cerevisiae* — к бактериальным. MLH4 других изученных эукариот имеет сходство с белками в протеомах обеих прокариотических групп. Показатели сходства также были небольшими, однако, более значимыми, чем в случае белков СК.

Для группы белков ядерной мембраны результаты также оказались разными (табл. 15.4). При небольшом сходстве часть белков была ближе к архейным, часть — к бактериальным. Таким образом, эти белки тоже, вероятно, появились у первых эукариот.

Таблица 15.4.

Сходство белков ядерной оболочки эукариот с белками архей и бактерий.

Объект	Нуклеопорины		Белки ядерной оболочки
<i>S. cerevisiae</i>	Nup145	Seh1**	Gap-1
<i>S. pombe</i>	Nup116, Nup189***	Seh1**	Src-1
<i>D. melanogaster</i>	NUP98	NUP44A**	DSRC64**
<i>A. thaliana</i>	SAR3	SEH1-like**	—
<i>C. elegans</i>	NPP-10	NPP-18**	HEH-1
<i>D. rerio</i>	NUP98	SEH1**	NCOA1***
<i>M. musculus</i>	NUP98	SEH1**	NCOA1***

Примечания — как в таблице 15.1.

Ортологами являются только нуклеопорины.

Таким образом, в целом сходство ядерных эукариотических белков с прокариотическими низкое. Это можно объяснить значительной перестройкой генов и соответствующих белков у эукариот в ходе эволюции и, возможно, образованием *de novo* многих белков у древних эукариот. Только отдельные группы белков имеют более-менее высокие показатели сходства с белками прокариот. Это ферменты DMC1 и SPO11 и когезиновые белки SMC1 и SMC3. Группа структурных белков хромосом включает белки, сходные как с архейными белками (гистоны), так и с бактериальными (некоторые представители когезинового и синаптонемного комплексов). Это подтверждает гипотезу о смешанном (симбиотическом) происхождении эукариот. Следует при этом заметить, что наблюдаемое сходство про- и эукариотических белков может быть объяснено не только их общим эволюционным происхождением, но и явлением конвергенции, когда сходство белков является отражением сходства процессов, в которых они принимают участие, но не является следствием общности происхождения.

## Многообразие белков, формирующих синаптонемные комплексы у эукариот

Вопрос о происхождении белков синаптонемного комплекса поднимался разными исследователями. Так, ортологи белка Hop1 дрожжей были найдены почти у всех из 15 изученных видов эукариот, включая мышь и человека (Ramesh et al., 2005). Было также показано, что белок HORMAD1 мыши, ортолог Hop1, играет роль в формировании СК и является компонентом неспаренных хромосомных осей в мейозе (Daniel et al., 2011). Ортологи белков SYCP1 и SYCP3 позвоночных (входящих в состав поперечных филаментов и латеральных элементов СК соответственно) были обнаружены в протеомах представителей разных таксонов Metazoa, включая Placozoa, Porifera и Coelenterata. Экспериментально они исследованы у *Hydra* (Fraune et al., 2012). Было показано, что SYCE2 и TEX12 позвоночных (эти белки структурируют центральное пространство СК) консервативны у Metazoa, SYCE1 появляется у Bilateria, SYCE3 специфичен для Vertebrata. SYCE2 и TEX12 были экспериментально исследованы у *Hydra* (Fraune et al., 2013, 2016).

Недавно был проведён масштабный поиск белков, родственных всем известным белкам СК семи модельных видов эукариот, в протеомах всех эукариот (Grishaeva, Bogdanov, 2014). Всего был изучен консерватизм 33 белков СК. Результаты исследования оказались неожиданными.

Не были найдены белки, сходные с белками СК, у представителей следующих таксонов:

- Rhodophyta, Euglenophyta, Chrysophyta, Charophyta, Xanthophyta и Dinoflagellata (водоросли);
- Mesozoa, Gnathostomulida, Bryozoa, Cycliophora, Myzostomida и Nemertea;
- Rotifera, Nematomorpha, Scalidophora, Acanthocephala, Entoprocta и Gastrotricha (Coelomata);
- Tardigrada и Onychophora (Protostomia);

– Chondrichthyes (Chordata).

Найдено сходство только с белком FKBP6 мышцы (ферментом пептидил-пролил цис-трансизомеразой) в протеомах:

– Cryptophyta, Diatoms и Pelagophyceae (водоросли);

– Perkinsea, Rhizaria, Amoebozoa, Mucosporae;

– Annelida (Protostomia).

Как можно заметить, в этот список попали не только водоросли и примитивные эукариоты, но и кольчатые черви (Annelida), и хрящевые рыбы (Chondrichthyes). Отсутствие белков, сходных с белками СК модельных видов эукариот, у представителей указанных выше таксонов может свидетельствовать либо о протекании мейоза без формирования СК, либо о формировании СК из неизвестных белков.

До сих пор мейоз остаётся слабо изученным у огромного числа организмов за пределами узкой группы модельных видов (Loidl, 2016). Так, у некоторых Dinoflagellata мейоз есть, однако присутствие СК остаётся под вопросом. Данные по диатомовым водорослям также противоречивы. У некоторых из них наблюдали СК, однако биоинформатический анализ не выявил генов, кодирующих белки СК. Некоторые ризарии имеют половой процесс и СК, и у них были выявлены специфические мейотические гены, в частности, *Hop1*. Амёбы слабо изучены в отношении мейоза; лишь у некоторых был исследован мейоз и даже обнаружен СК, правда, в спорах. Мейоз в той или иной форме есть у споровиков (Apicomplexa), ряда представителей надтипа Alveolata, у низших грибов микроспориций (Cavalier-Smith, 2002). У некоторых красных водорослей также был выявлен СК. По-видимому, СК отсутствует у оомицетов и хрящевых рыб. У них другими исследователями также не обнаружены белки СК (Loidl, 2016).

Интересен также тот факт, что в протеомах Choanoflagellata, считающихся среди одноклеточных ближайшими родственниками многоклеточных животных (Dickinson et al., 2011), нет белков, имеющих высокую степень сходства с каким-либо известным белком СК (Grishaeva, Bogdanov, 2014). При этом другие мейоз-специфичные белки (кроме REC8) были выявлены (Loidl, 2016). С другой стороны, в протеомах эукариот (кроме близкородственных видов) не были обнаружены белки, родственные некоторым специфичным белкам — белкам центрального пространства СК дрозофилы (Corona) и нематоды (SYP-1, SYP-2, SYP-3, SYP-4), а также белкам латеральных элементов СК дрожжей (Red1 и Rec10) и дрозофилы (C(2)M). Это свидетельствует о независимой эволюции мейоза в разных филогенетических линиях эукариот.

Кроме упомянутых выше особых белков дрозофилы и нематоды, большинство белков СК модельных видов имеет родственные белки у представителей разных ветвей эукариот (табл. 15.5). Что касается белков центрального пространства СК позвоночных (SYCP1, SYCE1-SYCE3, TEX12), то сходные с ними белки найдены только у хордовых. Единственным исключением являются ортологи белка SYCE2 мышцы и рыбы у представителей вторичноротых (Echinodermata, иглокожие), аннотированные в базах данных, хотя степень их сходства при этом очень небольшая.

Таблица 15.5.

Белки СК модельных биологических видов, имеющие наивысшее сходство с белками других эукариот, и таксоны, у представителей которых найдены сходные белки.

Белки СК	Таксоны, в которых найдены сходные белки
<b>Белки центрального пространства СК</b>	
SYCP1 Mm	Actinopterygii, Sauropsida
SYCE3 Mm	Amphibia, Sauropsida
SYCE1, SYCE2, TEX12 Mm	Sauropsida
SYCP1 Dr	Sauropsida, Mammalia
ZYP1a, ZYP1b At	Lycopodiophyta
<b>Белки латеральных элементов СК и другие белки СК</b>	
ASY1 At	Algae, fungi, Mosses, Lycopodiophyta, Parabasalia + Fornicata + Heterolobosea*, Apicomplexa, Euglenozoa, Porifera, Placozoa, Coelenterates, Platyhelminthes, Nematoda, Deuterostomia
ASY2 At	Chlorophyta, Mosses, Lycopodiophyta, Parabasalia + Fornicata + Heterolobosea*, Apicomplexa
Hop1 Sc	Euphyllophyta, lower fungi, Basidiomycota, Parabasalia + Fornicata + Heterolobosea*
SC65 Mm, SC65 Dr	Porifera, Placozoa, Coelenterates, Nematoda, Mandibulata, Deuterostomia
SYCP3 Mm, SYCP3-like Dr	Porifera, Placozoa, Coelenterates, Mollusca, Echinodermata, Cephalochordata, Tunicata, Vertebrata
SYCP2 Mm	Echinodermata, Cephalochordata, Actinopterygii, Amphibia, Sauropsida
SYCP2 Dr	Mammalia

\* Эти таксоны изучались как одна группа.

Обозначение модельных видов эукариот: Sc — дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, At — растение *Arabidopsis thaliana*, Dr — рыба *Danio rerio*, Mm — мышь *Mus musculus*.

Среди белков латеральных элементов СК высокой консервативностью отличался фермент FKBP6, но он не является структурным компонентом СК. Среди других белков ЛЭ СК выделяются белки с доменом NORMA. Белки, родственные белкам ASY1 и ASY2 арабидопсиса, а также Hop1 дрожжей, найдены у водорослей, мхов, грибов, примитивных эукариот и у многих многоклеточных животных, включая губок, червей, иглокожих и позвоночных. Неизвестно, формируется ли СК в мейозе у всех изученных объектов, ибо, например, такие низшие грибы, как *Aspergillus nidulans*, обходятся в мейозе без СК (цит. по: Пенкина и др., 2002; Loidl, 2016). Однако известно, что домен NORMA, структурирующий хромосомы, необходим для построения латеральных элементов СК у таких модельных организмов, как цветковое растение *A. thaliana*, сумчатый гриб *S. cerevisiae*, нематода *C. elegans*.

Белки, родственные SYCP2, SYCP3 и SC65 мыши и рыбы, найдены только у многоклеточных (Fraune et al., 2012, 2013, 2016; Grishaeva, Bogdanov, 2014).

Из полученных данных можно сделать следующие выводы.

(1) Для построения синаптонемного комплекса (СК) в разных филогенетических линиях эукариот используются негомологичные белки, однако для сборки латеральных элементов в этих белках чаще всего присутствует домен NORMA. Возможно, это самые древние белки СК. У позвоночных подобные белки (HORMAD1) являются компонентами неспаренных хромосомных осей в мейозе и необходимы для правильного формирования СК (Daniel et al., 2011). Замена белков с доменом NORMA на SYCP2 и SYCP3 у позвоночных и многих беспозвоночных животных произошла, возможно, из-за увеличения сложности белковых комплексов, работающих в мейозе, в том числе, за счёт мейотических когезинов и дополнительных белков.

(2) Наиболее вариабельны белки центрального пространства СК. Следовательно, латеральные элементы могут соединяться в единый комплекс за счёт взаимодействия разных белков.

(3) Независимые эволюционные линии многоклеточных эукариот, возможно, имеют общий набор базовых мейотических белков (Loidl, 2016). На это указывают и данные, полученные авторами книги (см. предыдущий и последующий разделы), и результаты работы других исследователей, например, Рамеша с соавторами (Ramesh et al., 2005). Имеется также набор структурных белков, специфичных для каждой линии многоклеточных. В этот набор входят и некоторые белки СК. В этом случае важно присутствие определённых функциональных доменов и их конформация.

## Эволюционный консерватизм белков рекомбинации и изменчивость мейоз-специфичных белков хромосом

Основную массу мейоз-специфичных белков составляют белки рекомбинации — ферменты и модуляторы этого процесса. Они считаются наиболее консервативными (Hunter, Kleckner, 2001; Marcon, Moens, 2005). В противоположность белкам репарации-рекомбинации, белки, формирующие синаптонемные комплексы (СК), различны у разных организмов (Heyting, 1996; Smith, Roeder, 2000; Богданов и др., 2002; Page, Hawley, 2004). Определённая консервативность присуща также мейотическим когезинам, но она ниже, чем у когезинов соматических клеток (Pasierbek et al., 2001; Гришаева и др., 2007).

Было проведено сравнение консервативности разных групп белков, работающих в мейозе: компонентов когезинового и синаптонемного комплексов, ферментов и их функциональных доменов (Гришаева, Богданов, 2017). Традиционно считалось, что именно функциональные домены белков должны быть сходными у разных организмов. Ранее было отмечено, что сходство мейоз-специфичных когезинов, например, REC8, существует только в области функционального домена (Pasierbek et al., 2001). Было также показано, что это сходство весьма небольшое (Гришаева и др., 2007).

**Белки гомологичной рекомбинации.** Эндонуклеаза SPO11 и её ортологи, вносящие двунитевые разрывы в ДНК, — первые по времени белки, оперирующие на хромосомной ДНК в ходе мейотической рекомбинации — мало консервативны (табл. 15.6, рис. 15.1 а). Сходство между ортологами организмов из разных фи-

лумов не превышает 32%. Однако в подтипе позвоночных (рыба, мышь и человек) белки SPO11 консервативны: относительные показатели сходства варьируют в пределах от 56,6% до 86,6%.

Таблица 15.6.

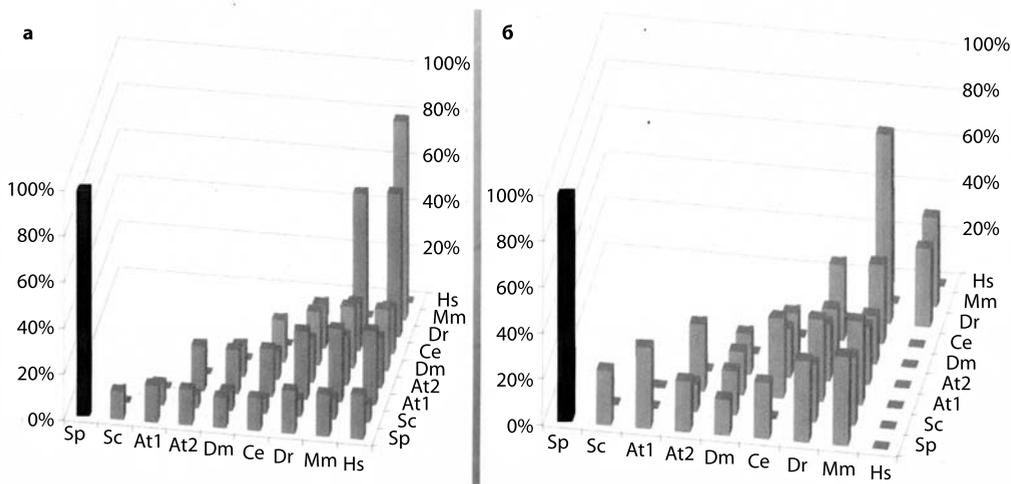
Показатели попарного сходства мейотических белков и их доменов.

Белок или домен	Пределы значений относительного сходства белков или доменов	Относительное сходство белков или доменов между филумами (исключены родственные виды внутри филумов)
<b>RAD51</b>	13–99%	13–76%
rad51_DMC1_radA domain	63–100%	57– <b>85%</b> *
<b>DMC1</b>	49–97%	49–60%
rad51_DMC1_radA domain	58–99%	58– <b>67%</b>
<b>MLH1</b>	14–87%	14–49%
Mut_L_Trans domain	14–97%	14–61%
<b>SPO11</b>	6–87%	6–32%
TOPRIM_topoIIb_SPO domain	14–73%	14–45%
TPGA_N domain	0–82%	0–38%
<b>RAD21</b>	0–97%	0–31%
Rad21_Rec8_N domain	18–100%	18– <b>86%</b>
<b>REC8</b>	0–67%	0–5% *
Rad21_Rec8_N domain	0–92%	0–24%
<b>Hop1/ASY/HIM-3/ HORMAD1</b>	1–76%	1–14%
HORMA domain	4–92%	4–26%

\* **Жирным шрифтом** выделены наибольшие показатели попарного сходства ортологов, *курсивом* — наименьшие. Приведённые показатели сходства являются относительными (в % от максимально возможного — сходства «сам на себя»)

Определены показатели сходства для функциональных доменов белка SPO11, чтобы сравнить их с таковыми для целых молекул. Домен TOPRIM\_topoIIb\_SPO имеет размеры от 155 до 171 а.к. Он катализирует АТФ-зависимый транспорт одного дуплекса ДНК через другой. Сходство доменов для представителей разных царств находится примерно на том же уровне, что и сходство целых белков (табл. 15.6). Зато в пределах позвоночных оно меньше (73% против 87%). Другой домен белка SPO11 — TPGA\_N (с функцией ДНК-топоизомеразы типа IIb) — имеет длину всего 65–72 а.к. Его показатели сходства иногда превышают таковые для большего домена, но чаще малы или незначимы (рис. 15.1 б). Сходство наблюдается не по всей длине домена.

Мейоз-специфичный белок **DMC1** отсутствует у некоторых изученных видов. Сходство его ортологов у модельных объектов варьирует от 49% (DMC1 *A. thaliana* по сравнению с DMC1 *S. cerevisiae*) почти до 100% у позвоночных (рис. 15.2 а, табл. 15.6).



**Рис. 15.1.** Сравнительная консервативность белка SPO11 (а) и его домена TPGA\_N (б) из протеомов модельных видов.

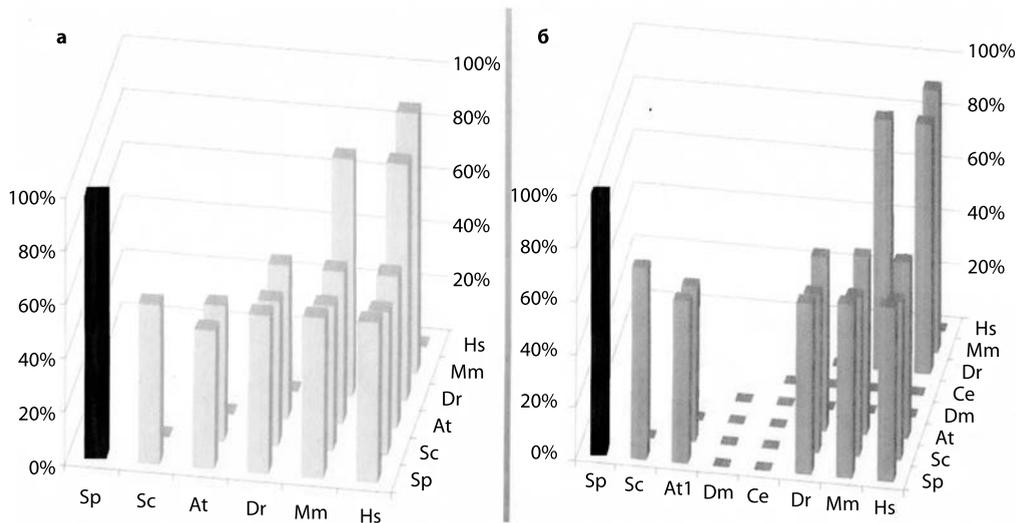
На горизонтальной оси указаны виды модельных организмов, чьи белки были изучены.

Sp — *Schizosaccharomyces pombe*, Sc — *Saccharomyces cerevisiae*, At — *Arabidopsis thaliana*, Dm — *Drosophila melanogaster*, Ce — *Caenorhabditis elegans*, Mm — *Mus musculus*, Hs — *Homo sapiens*. На вертикальной оси — попарное сходство белков как процент от максимально возможного сходства «сам на себя» (100%). Диагональные столбики, соответствующие 100%, срезаны, кроме одного (чёрного цвета). Из: Grishaeva, Bogdanov, 2018.

Большой функциональный домен белка DMC1 — Rad51\_DMC1\_rad1 — присутствует также и у фермента RAD51. Он удерживает вместе одинарную и двойную нити ДНК. Его размер у ортологов DMC1 составляет около 230 а.к. Сходство домена у разных видов почти такое же, как и у целой молекулы: до 99% у позвоночных и до 67% у представителей разных филумов (табл. 15.6, рис. 15.2 б).

Фермент **RAD51** имеет тот же уровень консерватизма, что его мейотический гомолог DMC1 (табл. 15.6). В пределах подтипа позвоночных сходство доходит до 99%; наблюдается также высокое сходство между белками человека и дрожжей *S. pombe* (до 71%). Белки дрозофилы и арабидопсиса имеют близкие уровни сходства с белками других организмов (45–66%), но между собой они не идентичны. Функциональный домен этого фермента (Rad51\_DMC1\_radA, больший из двух) по уровню консервативности слегка превышает показатели для целого белка (57–85% между филумами и до 100% в пределах позвоночных).

Фермент **MLH1**, участвующий в кроссинговере и репарации ошибочно спаренных оснований, обладает лишь 14–49% сходства у видов из разных царств (табл. 15.6, рис. 15.3 а). Это выше, чем консервативность SPO11, но ниже, чем показатели для RAD51 и DMC1. Самое низкое сходство (14,4%) наблюдается между белками нематоды и арабидопсиса; в паре дрозофила-данио этот показатель достигает 48,8%.



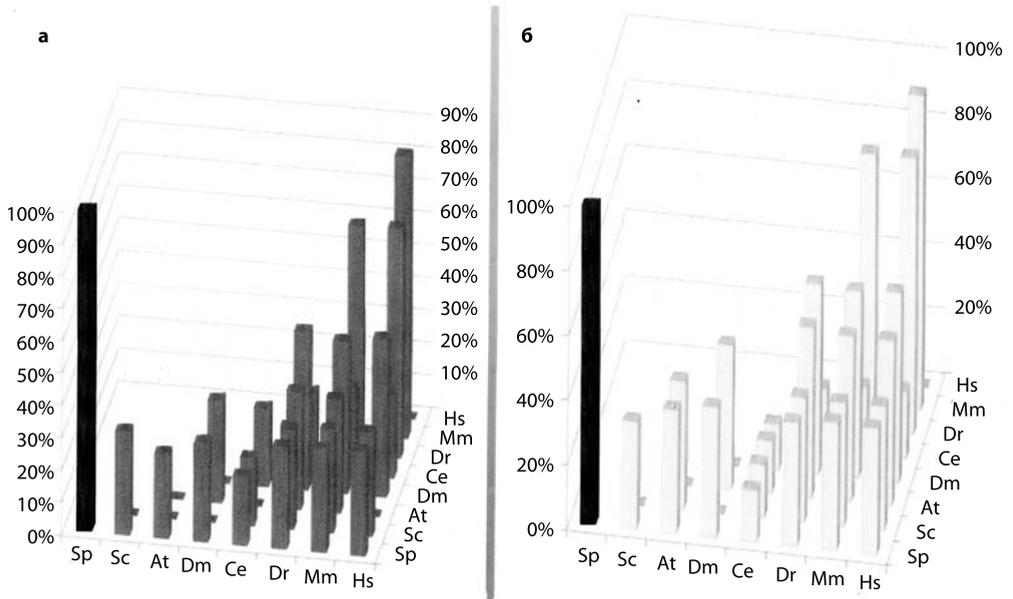
**Рис. 15.2.** Сравнительная консервативность белка DMC1 (а) и его домена rad51\_DMC1\_rada (б) из протеомов модельных видов.

Обозначения такие же, как на рис. 15.1. У дрозофилы и нематоды этого белка нет. Из: Grishaeva, Bogdanov, 2018.

Наивысшее сходство прослеживается в пределах подтипа позвоночных (67–87%). В составе фермента MLH1 определяются три функциональных домена. Один из них, Mut\_L\_Trans, важен для гидролиза нуклеотидов и передачи структурных сигналов. Его показатели сходства варьируют от 14 до 97% (табл. 15.6., рис. 15.3 б). Это та же степень консервативности, что и у целых молекул.

**Структурные белки мейотических хромосом.** Изучена консервативность одного из компонентов когезинового комплекса — **RAD21**. Показатели сходства его ортологов либо являются незначимыми, либо не превышают 31% (табл. 15.6). Это значительно отличает этот белок от упомянутых выше ферментов рекомбинации. Лишь в пределах подтипа позвоночных сходство ортологов достигает 97%. Когезины дрожжей *S. cerevisiae* (Scc1) и арабидопсиса (SYN2, SYN3, SYN4) имеют самое низкое сходство с ортологами других видов (незначимое или не превышающее 8%). Мейотический гомолог RAD21 — белок **REC8** — имеет значимое сходство только в подтипе позвоночных (табл. 15.6, рис. 15.4 а). Даже сходство мышинового и человеческого когезинов не превышает 67%, что намного ниже, чем для упомянутых выше белков мейоза. А между ортологами у представителей разных царств сходство падает до 5%.

Белок RAD21 имеет в своём составе два домена Rad21\_Rec8\_N, больший на N-конце молекулы и меньший на C-конце. Поскольку некоторые ортологи REC8 имеют только N-концевой домен, проанализирована именно его консервативность у обоих белков. Для домена белка RAD21 сходство колеблется от 93 до 100% у позвоночных и от 18 до 86% в остальных случаях, что намного превышает показатели



**Рис. 15.3.** Сравнительная консервативность белка MLH1 (а) и его домена Mut\_L\_Trans (б) из протеомов модельных видов.

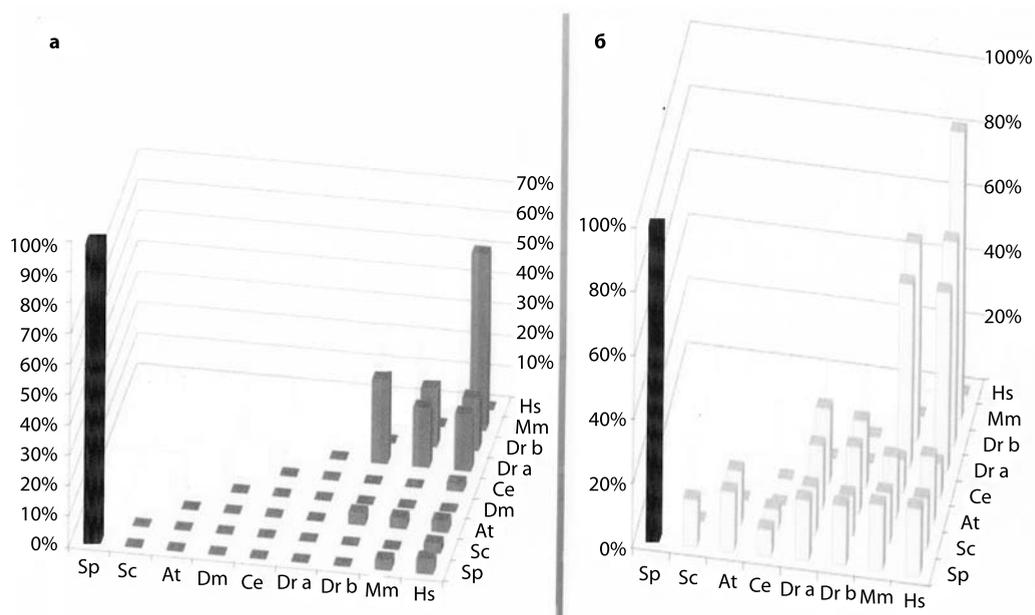
Обозначения как на рис. 15.1. Из: Grishaeva, Bogdanov, 2018.

сходства для целых молекул. Тот же домен у REC8 имеет до 24% сходства (до 92% у позвоночных), хотя некоторые попарные сравнения не выявили никакого сходства (рис. 15.4 б).

Белки **синаптонемного комплекса** (СК) представляют другую группу структурных мейотических белков. Эти белки являются частью латеральных элементов СК и несут в своём составе домен NORMA (кроме белка Hop1 дрожжей *S. pombe*). Сходство ортологов этого белка очень мало: при сравнении организмов из разных царств оно составляет от 1% (для ASY1 арабидопсиса) до 14% (для NORMAD1 *D. rerio*). Внутри подтипа позвоночных сходство белков достигает 76% (табл. 15.6).

Домен NORMA отвечает за структурирование хроматина и взаимодействие с другими белками (Muniyappa et al., 2014). Его длина варьирует от 175 до 235 а.к. Значительное увеличение сходства доменов по сравнению с целыми молекулами (до 26%, т.е. в пять раз) наблюдается для ASY2 арабидопсиса. Среди позвоночных сходство достигает 92%. В других случаях сходство возрастает не более чем в два раза.

Таким образом, среди ключевых белков мейоза наиболее консервативны белки, ответственные за точность мейотической рекомбинации. Когезины, белки синаптонемных комплексов и мейоз-специфичная эндонуклеаза SPO11 менее консервативны даже в пределах их функциональных доменов (Гришаева, Богданов, 2017). Оче-



**Рис. 15.4.** Сравнительная консервативность белка REC8 (а) и его домена Rad21\_Rec8\_N (б) из протеомов модельных видов. Обозначения как на рис. 15.1. Из: Grishaeva, Bogdanov, 2018.

видно, что мейоз-специфичные белки претерпели независимую эволюцию в разных филогенетических линиях эукариот

Домены ферментов мейоза у модельных видов являются лишь немногим более сходными, чем целые молекулы. Лишь для структурных белков мейоза, таких, как RAD21, REC8, а также Hop1 и его ортологи, показано сходство в основном в области функциональных доменов.

Таким образом, подтверждается идея о том, что независимые эволюционные линии многоклеточных эукариот имеют общий набор базовых мейотических белков (Loidl, 2016). Этот набор состоит из белков рекомбинации (SPO11, RAD50+MRE11, RAD51/DMC1, MSH4+MSH5+MLH1), белков синаптонемного комплекса и мейоз-специфичных компонентов когезинового комплекса (REC8). К нему добавляются наборы белков, специфичных для тех или иных линий развития эукариот.

## Глава 16.

# Сравнительный анализ структурных белков мейоза методами биоинформатики

Глава посвящена специальному анализу структуры белков, играющих важную, в ряде случаев ключевую роль в преобразованиях и поведении хромосом в ходе мейоза. Белки, формирующие поперечные филаменты синаптонемных комплексов (СК) модельных организмов (арабидопсиса, почкующихся дрожжей, нематоды, дрозофилы, рыбы, мыши) и человека, не имеют гомологии первичной структуры, но похожи по вторичной структуре и конформации. На основе этого сходства была разработана стратегия поиска ортологов белков СК в протеомах эукариот, которая позволила идентифицировать давно известный белок C(3)G дрозофилы как белок поперечных филаментов СК и обнаружить белок поперечных филаментов СК (ASY1) у арабидопсиса.

Три из четырёх компонентов когезинового комплекса хромосомных белков имеют специфические мейотические формы, отличающиеся от митотических форм этих белков. Для каждого белка параметры отличий разные. Это специфический аминокислотный мотив у белка SMC1 $\beta$ , перестройка мотивов внутри функционального домена у REC8, вторичная структура у трёх форм белка STAG. Все эти отличия потенциально могут влиять на конформацию этих белков *in situ*.

Мейотические формы шугошинов — протекторов центральной когезии — не составляют консервативного семейства. Единственный общий признак этих белков — небольшой высоко консервативный домен на С-конце полипептидной цепи этих белков. У позвоночных животных он обогащён аргинином (так называемая «аргининовая гребёнка»), и это обуславливает (у позвоночных животных) прочное взаимодействие мейоз-специфичных шугошинов с остатками гуанина в ДНК. Это, возможно, приводит к запрету расхождения сестринских хроматид в разные клетки в первом делении мейоза и обеспечивает редукцию числа хромосом в этом делении.

## Стратегия поиска белков синаптонемного комплекса

К началу XXI века были известны лишь немногие белки синаптонемного комплекса. В 1992 г. был выделен и изучен белок SCP1 крысы (Meuwissen et al., 1992), называемый теперь SYCP1. В следующем году — белок Zip1 дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (Sym et al., 1993). Потом пришла очередь SYN1, ортолога SCP1, у золотистого хомячка *Mesocricetus auratus* (Dobson et al., 1994). Однако круг модельных объектов, из которых были биохимическими методами выделены белки синаптонемных комплексов и установлена их структура и функция, был невелик. В частности, не были известны белки СК у дрозофилы. Для исследований белков СК методами биоинформатики ресурсов также было немного. Однако в 2000 г. геном дрозофилы был секвенирован. Возникла возможность найти хотя бы некоторые белки

СК дрозофилы методами биоинформатики. Единственной перспективной категорией белков в этом отношении были белки поперечных филаментов СК.

Ультраструктура поперечных филаментов весьма проста. У многих изученных организмов они построены из одного белка (Heyting, 1996; Zickler, Kleckner, 1999). Например, поперечные филаменты СК дрожжей *S. cerevisiae* сформированы из белка Zip1. Он функционально аналогичен белку SCP1 (SYCP1) СК млекопитающих (см. главу 14). Поперечные филаменты СК, состоящие из этих белков, соединяют латеральные элементы. Ширина центрального пространства СК, т.е. расстояние между его латеральными элементами, есть величина более или менее постоянная и составляет 90–120 нм у грибов, 100–120 нм у насекомых, около 100 нм у млекопитающих (Westergaard, von Wettstein, 1972; von Wettstein et al., 1984). Вторичная структура и конформация белков, формирующих поперечные филаменты СК, очень похожа у дрожжей и млекопитающих. Эти белки состоят из двух глобулярных участков на концах молекулы и протяжённого альфа-спирального участка в центральной части, который образует палочковидную структуру (Heyting, 1996). Димеры Zip1 и SCP1 направлены навстречу друг другу и перекрываются N-концевыми участками (Liu et al., 1996; Tung, Roeder, 1998; Dong, Roeder, 2000). С-концевые фрагменты, имеющие сродство к ДНК, прикрепляются к латеральным элементам СК, содержащим ДНК (Tung, Roeder, 1998). Сравнение первичной структуры этих белков и соответствующих генов у дрожжей и млекопитающих не выявило гомологии, кроме гомологии в пределах класса млекопитающих (Dong, Roeder, 2000).

Для поиска соответствующего белка у дрозофилы необходимо было знать два условия: приблизительный район поиска гена в геноме и алгоритм поиска. Кандидатом на роль белка СК был выбран белок-продукт гена *c(3)G*, так как рецессивная мутация гена полностью нарушала формирование СК и кроссинговер у мух (Smith, King, 1968). Ген *c(3)G* ранее был локализован в районе 89A2-5 хромосомы 3R на цитологической карте *D. melanogaster* (FlyBase; Matsubayashi, Yamamoto, 1998), поэтому этот район был выбран для анализа. Для выработки стратегии поиска было исследовано взаимоотношение между шириной центрального пространства СК и длиной белковой молекулы, формирующей поперечные филаменты СК, и было выдвинуто предположение о том, что может существовать линейная зависимость ширины центрального пространства СК от длины линейного  $\alpha$ -спирального участка белковой молекулы. Этот анализ был проведён на основании данных литературы и включал мутантов дрожжей с удлинённым или укороченным белком Zip1, продуктами мутантных генов *zip1*. Эти мутации представляли собой внутригенные дупликации и делеции гена. Вычисленный коэффициент корреляции между длиной кодирующей части гена и шириной центрального пространства СК был высоким ( $r = 0.85, p < 0,001$ ) (Grishaeva et al., 2001). Тем самым предположение подтвердилось.

Поскольку ширина центрального пространства СК у дрозофилы составляет 110 нм (Carpenter, 1975), длина искомого белка C(3)G должна была быть в пределах от 700 до 1000 а.к. В искомом районе генома (хромосомы 3) дрозофилы был найден только один белок, обладавший требуемым размером и конформацией, т.е. имевший протяжённую  $\alpha$ -спираль в центральной части молекулы. Его длина составляла 744 а.к. Соответствующий ген был аннотирован как *CG17604*. На основе баз данных о структурах белков были определены также изоэлектрические точки (pI) белка CG17604 и

его доменов, а также эти же параметры для известных белков СК. Все белки имели pI С-концевого домена в пределах 9,7–10,1 (у дрозофилы 9,72), что необходимо для взаимодействия с ДНК (Meuwissen et al., 1992). Похожи были также pI целых молекул (от 5,56 до 6,4, у дрозофилы 5,91) и альфа-спиральных участков (5,31–6,06, у дрозофилы чуть меньше — 4,93). Единственный параметр, который отличал CG17604 от других белков — это pI N-концевого домена (4,2–5,86, у дрозофилы 10). Это можно было объяснить спецификой ультраструктуры центрального пространства СК у мух (сильная исчерченность и структурированность (Carpenter, 1975)). Позже было установлено, что у дрозофилы СК формируется особым образом (см. главу 11).

Таким образом, в районе 88E6-89B2 хромосомы 3R дрозофилы был обнаружен лишь один ген, чей предсказанный продукт по многим параметрам похож на белки, формирующие поперечные филаменты СК, — CG17604 (секция 89A7-8 цитологической карты). Было высказано предположение, что это может быть и есть давно известный ген *c(3)G*, хотя его цитологическая локализация немного не совпадала с локализацией найденного гена CG17604 (Grishaeva et al., 2001). В это же время появилась в печати статья Пэйджа и Хаули (Page, Hawley, 2001), в которой они экспериментально доказали, что ген *c(3)G* скрывается под номером CG17604. Таким образом, двумя независимыми путями было показано, что давно известный мейотический ген *c(3)G* кодирует белок поперечных филаментов СК дрозофилы. Стратегия поиска белков СК *in silico*, предложенная Гришаевой и соавторами (Grishaeva et al., 2001), была использована другими исследователями при поиске белков СК у арабидопсиса (Higgins et al., 2005). В результате такого поиска был обнаружен белок ZYP1.

## Когезины: сравнение мейотических и митотических форм белков

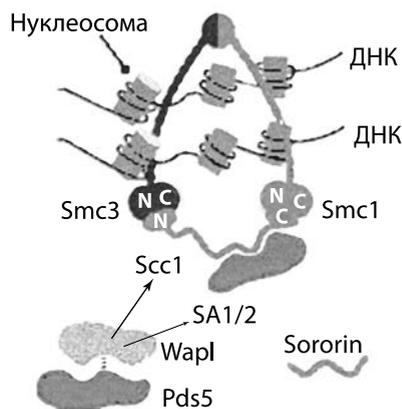
Важным процессом, предшествующим митозу и мейозу, является возникновение тесной связи (когезии) между сестринскими хроматидами. Когезия необходима для удержания сестринских хроматид на экваторе веретена во время метафазы и для правильной ориентации и расхождения хромосом (Samara et al., 2000; Revenkova, Jessberger, 2005, 2006; Valdeolmillos et al., 2007). Когезия сестринских хроматид формируется с участием мультипротеиновых комплексов — когезинов. В аннотации когезинов вписаны также поддержание рекомбинационной репарации и обеспечение целостности хромосом при облучении ионизирующей радиацией (Valdeolmillos et al., 2007). В когезии участвует 14 разных белков (Jones, Sgouros, 2001). Ядро когезинового комплекса составляют четыре белка, образующих кольцо вокруг двух сестринских хроматид после цикла репликации ДНК: SMC1, SMC3, SCC1 (называемый также RAD21) и SCC3 (рис. 16.1). Ортологи SCC3 называются стромалинами (Stromalin antigen protein — SA или STAG) (Pezzi et al., 2000). У всех изученных позвоночных и у дрозофилы имеется по два и более представителя стромалинов. В профазе I мейоза белки когезинового сердечника («кора») хромосом служат каркасом для «монтажа» на них белков рекомбинации и специфических для мейоза белков синаптонемного комплекса (Pelttari et al., 2001; Eijpe et al., 2003).

Часть когезиновых белков является общей для митоза и мейоза. Другая часть заменяется в мейозе сходными, но не идентичными белками-гомологами (Revenkova, Jessberger, 2005, 2006). Часть ядерных белков SMC1 меняется на SMC1 $\beta$ , часть RAD21 — на REC8. У дрожжей *S. pombe* вместо Scc3 в мейозе появляется Rec11, у млекопитающих вместо STAG1 и STAG2 появляется STAG3. Лишь SMC3 не имеет мейотической формы.

В профазе I белки когезинового «сердечника» хромосом взаимодействуют с аппаратом рекомбинации и вместе со специфичными белками синаптонемного комплекса способствуют синапсису между гомологичными хромосомами (Klein et al., 1999; Eijpe et al., 2000, 2003; Pelttari et al., 2001). До формирования синаптонемного комплекса образуются предшественники осевых элементов («cores» хромосомных осей) с участием мейотического когезина REC8 (гомолога митотического RAD21). Затем мейотический когезин SMC1 $\beta$ , когезин SMC3 и белки осевых элементов SCP2 и SCP3 формируют нормальный осевой элемент хромосомы. В пахитене из двух осевых элементов и вновь собираемого центрального элемента формируется СК. В метафазе I SMC1 $\beta$ , SMC3, SCP2 и SCP3 исчезают из хромосомных плеч и собираются в районе центромера, оставаясь там до анафазы II. Напротив, REC8 сохраняется вдоль плеч хромосом до анафазы I, обеспечивая когезию сестринских хроматид, а в прицентромерных районах он сохраняется и обеспечивает когезию до анафазы II. Предполагается, что REC8 обеспечивает основу для формирования как осевых элементов, так и рекомбинационных комплексов (Eijpe et al., 2003).

Кроме когезиновых белков, коориентацию сестринских кинетохоров в метафазе I обеспечивают так называемые белки моноориентации. Причём, как и многие белки СК, они имеют мало сходства в разных таксонах эукариот. Это белки MEIKIN млекопитающих, Moa1 *S. pombe*, Spo13 и Mam1 *S. cerevisiae* и MIS12 кукурузы (Loidl, 2016).

Необходимо отметить, что мейотические когезины не замещают митотические (соматические) в ходе мейоза, как считалось ранее, а сосуществуют в одних и тех же клетках. При этом комплекс SMC1 $\beta$  + SMC3 тесно связан с латеральными элементами СК, а комплекс SMC1 $\alpha$  + SMC3 локализуется в латеральных петлях хроматина (см. гл. 5) и лишь отдельными фокусами — в латеральных элементах СК (Prieto et al., 2002). То же самое относится и к когезинам REC8/RAD21 (Revenkova, Jessberger, 2005). Разные когезиновые комплексы образуются и вдоль плеч мейотической хромосомы. Так, у дрожжей *S. pombe* в плечах хромосом находится ком-



**Рис. 16.1.** Схема когезинового комплекса.

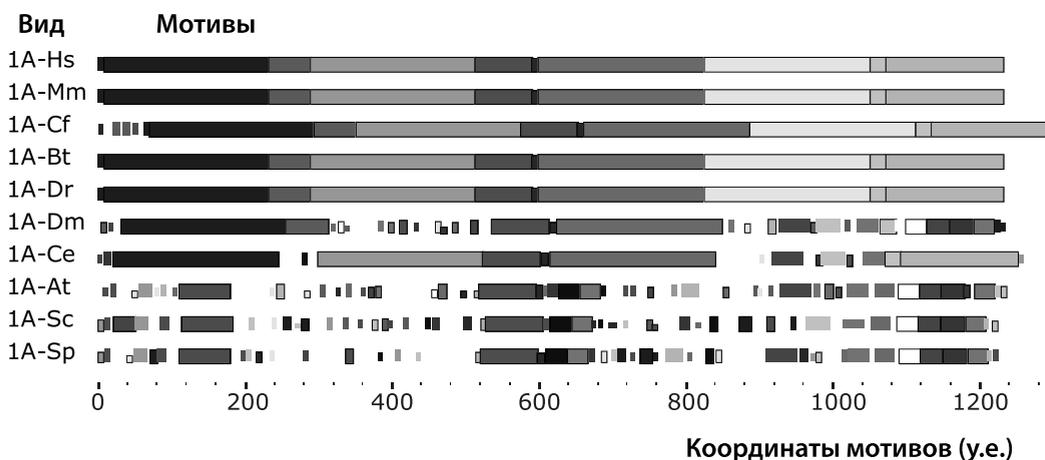
Указаны основные компоненты, образующие кольцо, и дополнительные белки. Из: Peters et al., 2008.

плекс Rec8 и Rec11, а в центромерной области — Rec8 и Psc3 (Kitajima et al., 2003). Таким образом, мейотические когезины появляются именно для специфической связи когезинового комплекса с белками СК, в первую очередь, с белками латеральных элементов СК.

**Сравнение когезиновых белков SMC1 (SMC1 $\alpha$ ) и SMC1 $\beta$ .** Белки SMC имеют определённую, хорошо изученную структуру (Milutinovich et al., 2007). На концах молекулы находятся глобулярные функциональные домены (головки), обладающие АТФ-азной активностью. Середина молекулы — «шарнир» (Hinge) — обеспечивает её складывание пополам для обретения функциональности. А большая часть левой и правой половин молекулы представляет собой две жёстких альфа-спиральных конструкции, которые соединяются в супер-спираль (coiled coil). SMC1 и SMC3 у эукариот активны в форме гетеродимера (см. рис. 16.1).

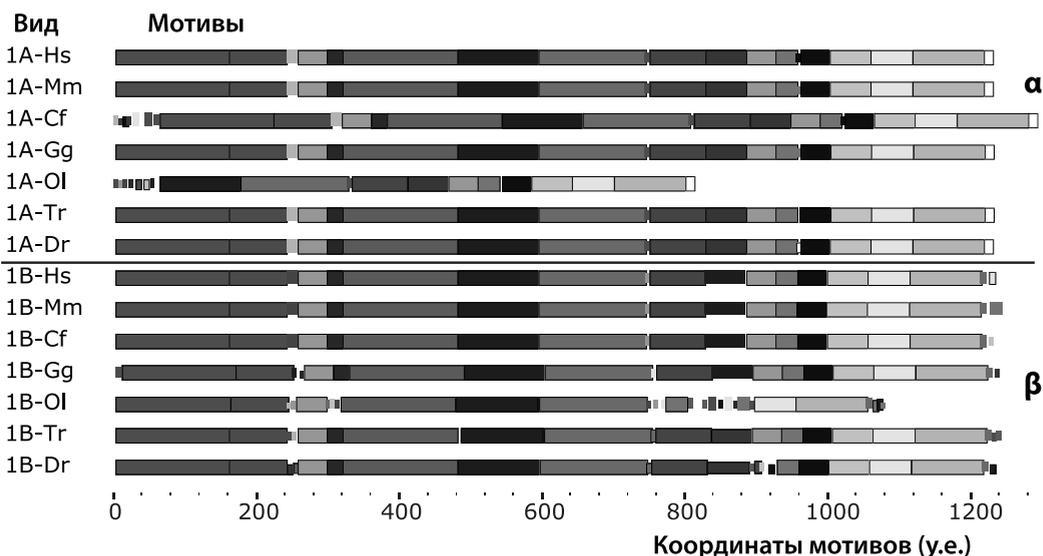
В литературе было отмечено только одно отличие SMC1 $\beta$  от SMC1 $\alpha$ , а именно: С-концевой отрезок молекулы размером 28 аминокислотных остатков (а.к.), обладающий ДНК-связывающей активностью (Revenkova et al., 2001). Было необходимо сравнить эти молекулы и по другим параметрам.

Анализ степени консерватизма митотических форм белка SMC1 у представителей разных таксонов эукариот от дрожжей до человека (рис. 16.2) принес определённые результаты. Высоко консервативным оказался лишь центральный фрагмент молекулы, содержащий точку перегиба (Hinge). У дрожжей, растений и беспозво-



**Рис. 16.2.** Консервативные аминокислотные мотивы в молекулах SMC1 $\alpha$  десяти видов эукариот.

Обозначения видов: Hs — *Homo sapiens*, Mm — *Mus musculus*, Cf — *Canis lupus familiaris*, Bt — *Bos taurus*, Dr — *Danio rerio*, Dm — *Drosophila melanogaster*, Ce — *Caenorhabditis elegans*, At — *Arabidopsis thaliana*, Sc — *Saccharomyces cerevisiae*, Sp — *Schizosaccharomyces pombe*. Показана аминокислотная последовательность белков от N- к С-концу. Одинаковые мотивы обозначены прямоугольниками одного оттенка и размера. Т.М. Гришаева, не опубликовано.



**Рис. 16.3.** Консервативные аминокислотные мотивы в молекулах когезинов SMC1 $\alpha$  (верхняя часть) и SMC1 $\beta$  (нижняя часть).

Обозначения видов — как на рис. 16.2. Gg — *Gallus gallus*, Ol — *Oryzias latipes*, Tr — *Takifugu rubripes*. Т.М. Гришаева, не опубликовано.

ночных животных сходными по набору аминокислотных мотивов являются также N- и C-концевые фрагменты молекул. Среди позвоночных животных был обнаружен высокий консерватизм всей аминокислотной последовательности, включая области  $\alpha$ -спиралей (Гришаева, 2012).

Было проведено также сравнение мейотических и митотических форм SMC1 у семи видов позвоночных животных (рис. 16.3). Они отличались лишь двумя небольшими мотивами, по одному в каждой  $\alpha$ -спирали. Замена небольшого мотива в N-концевой части молекулы (расположенного в районе 240-го аминокислотного остатка) при переходе от митоза к мейозу не вызывала серьезных изменений параметров белка (см. ниже). Более значимой была замена другого митотического мотива размером 11 а.к. (в районе 840-го аминокислотного остатка), сходного для всех изученных объектов, кроме рыбы *Takifugu*, на «мейотический мотив» длиной 6 а.к., различающийся у млекопитающих, рыб и птиц.

Влияние смены одних мотивов на другие при переходе от митоза к мейозу было прослежено с помощью двух параметров – распределения электростатического заряда вдоль молекул белков и формирования вторичной структуры. Установлено, что наиболее ощутимые изменения происходят в C-концевой половине молекулы. Если у когезина SMC1 $\alpha$  происходит быстрая смена заряда, то у SMC1 $\beta$  эти заряды консолидируются. Особенно явные изменения были выявлены во вторичной структуре. Жёсткая альфа-спиральная конфигурация SMC1 $\alpha$  (рис. 16.4 А) в молекуле



**Рис. 16.4.** Изменение альфа-спиральной структуры С-концевой половины молекул SMC1 $\beta$  (Б) по сравнению с SMC1 $\alpha$  (А).

По оси ординат — вероятность формирования альфа-спиральной структуры. Т.М. Гришаева, не опубликовано.

SMC1 $\beta$ , в области замены мотивов и ближе к С-концу, нарушается, что может привести к большей гибкости аминокислотной цепочки в этом месте (рис. 16.4 Б).

Наблюдаемое изменение вторичной структуры и заряда мейотической формы когезина SMC1 $\beta$  по сравнению с митотической SMC1 $\alpha$  может быть связано со сменой партнёров у компонентов когезинового комплекса в мейозе по сравнению с митозом.

**Сравнение структуры SMC3 у представителей разных таксонов эукариот.** Поскольку белки SMC3 при переходе от митоза к мейозу не меняются, необходимо было сравнить структуру этого компонента когезинового комплекса у разных видов эукариот, используя те же параметры, что и в случае SMC1.

Было показано, что по набору и последовательности консервативных аминокислотных мотивов SMC3 является даже более консервативным, чем SMC1 (рис. 16.5). Блоки одинаковых мотивов прослеживались у всех десяти изученных видов в N- и С-концевых участках молекулы, а также в средней части, соответствующей области перегиба (ср. с рис. 16.2). Белок представителя беспозвоночных животных — дрозофилы — оказался очень сходным по этому параметру с белками позвоночных (Гришаева, не опубликовано).

По распределению электростатического заряда вдоль молекулы белка когезина SMC3 различаются. Что касается вторичной структуры, то она у представителей разных таксонов эукариот, напротив, очень сходна, что и следовало ожидать.

**Сравнение клейсинов REC8 и RAD21.** По данным литературы, когезины REC8/RAD21 (клеисины) довольно консервативны, но значительное сходство выявлено лишь в районах расположения функциональных доменов REC8/RAD21 (Schleiffer et al., 2003). Анализ на уровне доменной организации показал почти полное сходство белков группы RAD21/REC8, поскольку все они содержат один и тот же когезиновый домен (Гришаева и др., 2007). Наличие этого домена позволяет предположить, что различие между белками RAD21 и REC8 в пределах одного организма будут меньше, чем между одноименными белками у разных видов. Для провер-

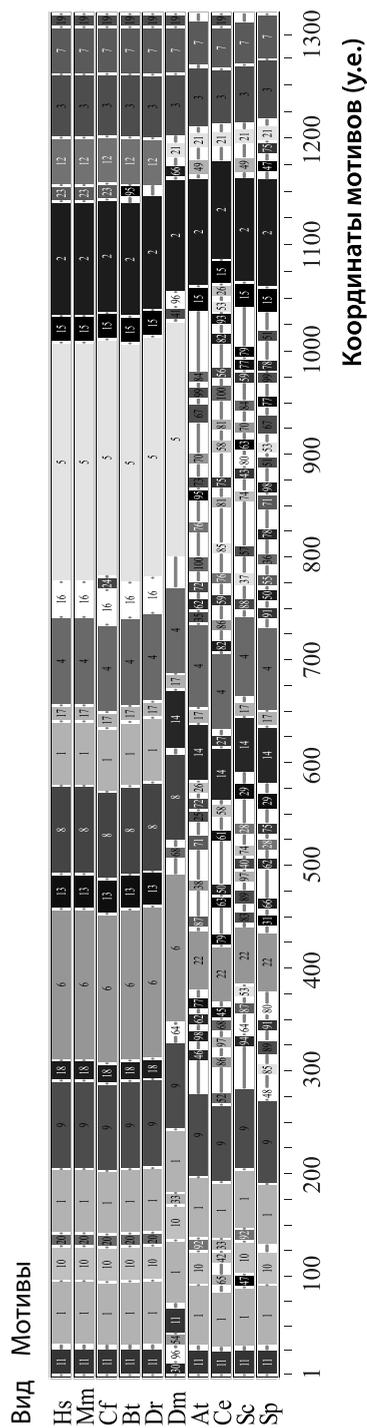
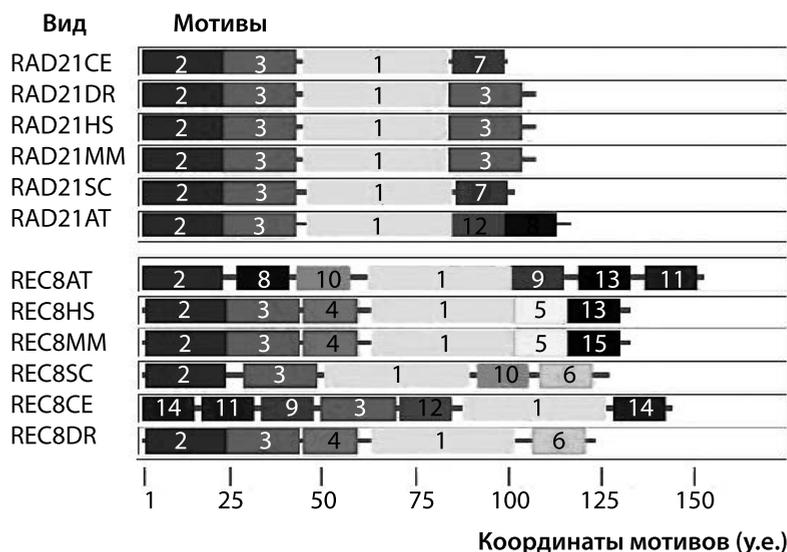


Рис. 16.5. Консервативные аминокислотные мотивы в молекулах когезинов SMC3. Обозначения видов — как на рис. 16.2. Т.М. Гришаева, не опубликовано.



**Рис. 16.6.** Консервативные аминокислотные мотивы в домене REC8/RAD21 изученных когезинов.

Рядом с названием белка указан биологический вид: SC — *Saccharomyces cerevisiae*, CE — *Caenorhabditis elegans*, AT — *Arabidopsis thaliana*, DR — *Danio rerio*, HS — *Homo sapiens*, MM — *Mus musculus*. Одинаковые мотивы обозначены прямоугольниками одного оттенка и размера и одинаковым номером, их координаты даны в условных единицах.

По: Гришаева и др., 2007.

ки этого предположения были исследованы *in silico* белки-ортологи REC8 и RAD21 нескольких модельных организмов, представляющих грибы, растения и животных. У RAD21 были выявлены два домена RAD21/REC8 — большего размера на N-конце белковой молекулы и меньшего — на C-конце. REC8 также имели два этих домена за исключением белков нематоды и рыбы, у которых присутствовал лишь первый, больший домен RAD21/REC8.

Была проанализирована детальная структура домена RAD21/REC8 этих белков (рис 16.6). Все белки RAD21 имели почти идентичное строение домена RAD21/REC8. В группе белков REC8 наблюдалось гораздо большее разнообразие. Обязательным для всех этих когезинов являлось наличие мотива № 1. Кроме выявленных ранее мотивов 1–3, было обнаружено наличие нескольких других мотивов, расположенных вразбивку.

Результаты проведенных исследований указывали на то, что группа мейотических когезинов REC8 является более гетерогенной по сравнению с митотическими RAD21 даже в пределах функционального домена (Гришаева и др., 2007). Видимо, у различных организмов этот функциональный домен формировался по-разному из отдельных мотивов. Это подтверждает представления о функциональной, а не

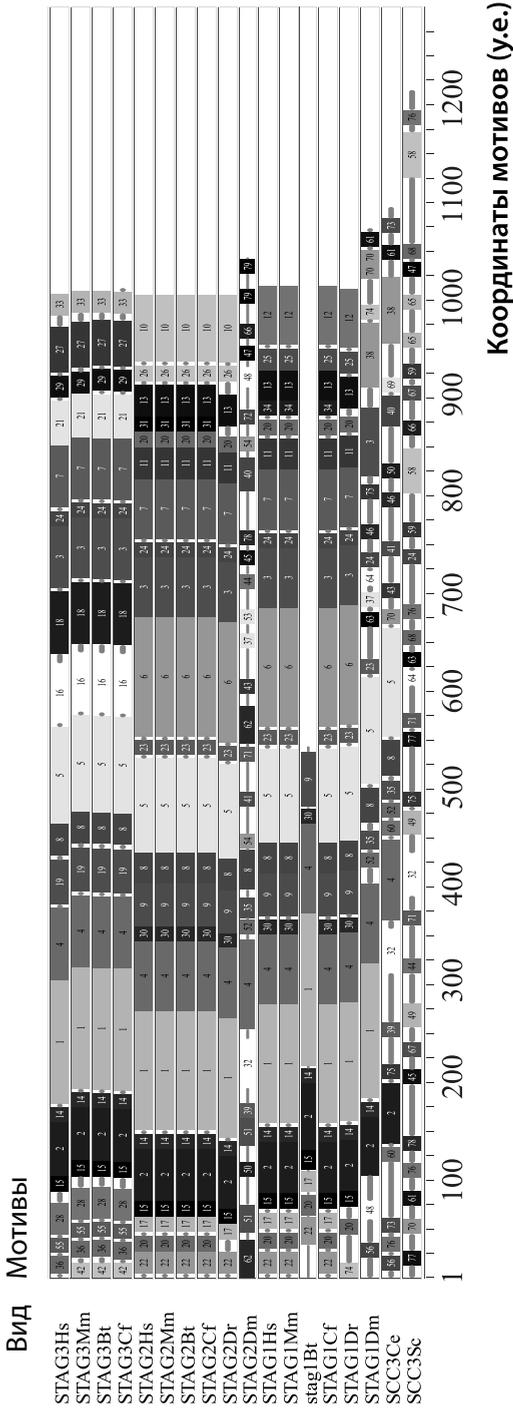
филогенетической консервативности структурных белков, специфичных для мейоза (Богданов, 2004). Было показано также, что различие целых молекул когезинов REC8 и RAD21 ещё более значительно, чем различие функциональных доменов (Гришаева, 2011). Можно сделать вывод, что для выполнения специфических мейотических функций когезины REC8 нуждаются в почти полной перестройке аминокислотной последовательности по сравнению со своими гомологами RAD21.

Полученные результаты свидетельствуют о полифункциональности изученных белков-когезинов. Для успешного функционирования таких белков важно взаимодействие как с субстратом, что обеспечивает функциональный домен, так и с другими белками, за что могут отвечать (прямо или косвенно) участки альфа-спиральной конфигурации. Такая структура является особенностью сложных многофункциональных белков, принимающих участие в формировании мультипротеиновых комплексов типа когезинового. Выявленные различия митотического когезина RAD21 и его мейотического гомолога REC8 могут свидетельствовать о специфичности субстрата и партнеров у этих двух групп белков.

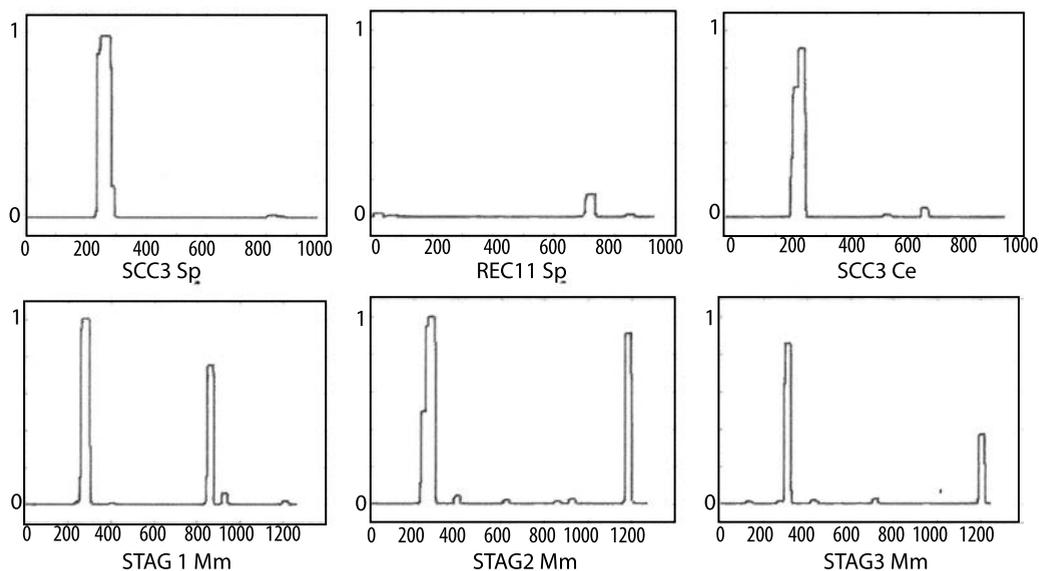
**Сравнение стромалинов *Scc3/SA/STAG1/STAG2* с их мейотическими гомологами *Rec11* и *STAG3*.** Белки *Scc3/STAG* охарактеризованы не так подробно, как, например, SMC. Изучена сравнительная локализация SA/STAG на хромосомах (Kitajima et al., 2003; Revenkova, Jessberger, 2005, 2006; Valdeolmillos et al., 2007). Результаты молекулярного анализа описаны в очень немногих работах (Pezzi et al., 2000; Lara-Pezzi et al., 2004). Отмечены сходство первичной структуры белков STAG в области N- и C-концевых доменов и наличие двух сигналов ядерной локализации (NLS\_BP) (Losada et al., 2000; Jones, Sgouros, 2001). Лишь немногие исследователи уделили должное внимание весьма интересному факту — наличию двух митотических форм стромалинов у позвоночных и немногих беспозвоночных животных (Losada et al., 2000; Samara et al., 2000 и др.), однако не было ясно, в чем различие их структуры и функции, а также в чем отличие этих форм от мейотического гомолога.

В соматических тканях у млекопитающих и лягушки *Xenopus laevis* доминирует SA2 — ортолог STAG2 (его количество в клетках в три раза больше, чем белка SA1), тогда как в яйцах лягушки обнаружено десятикратное преобладание SA1 (ортолога STAG1) (Losada et al., 2000). У кузнечика и дрозофилы исследования проводили на SA1, что может косвенно свидетельствовать о его преобладании у этих объектов (Valdeolmillos et al., 2007). Известно также, что два вида соматических когезинов никогда не выделяются препаративно в составе одного комплекса (Samara et al., 2000). Именно когезиновый белок SA2 у высших эукариот служит объектом фосфорилирования, что обеспечивает первый этап диссоциации когезинов из хромосомы в раннем мейозе (Hauf et al., 2005). Отмечено также, что STAG2 у человека может быть транскрипционным активатором, связываясь с факторами транскрипции и с гетерохроматиновым белком Swi6, паралогом HP1 (Lara-Pezzi et al., 2004).

Необходимо было понять, на чём основаны функциональные различия двух митотических форм *Scc3/SA/STAG* и их отличие от мейотической формы. Для этого были проанализированы ортологи этой группы когезиновых белков у ряда модельных организмов. У всех изученных когезинов присутствовал когезиновый функциональный домен (у низших эукариот — IRR1, у других организмов — как тот же домен, так и меньший по размеру домен STAG).



**Рис. 16.7.** Консервативные аминокислотные мотивы в молекулах SCC3/STAG. Обозначения видов — как на рис. 16.2. Т.М. Гришаева, не опубликовано.



**Рис. 16.8.** Вероятность формирования альфа-спирали молекулами когезиновых белков SCC3/ REC11/ STAG1-3 трёх видов эукариот.

Sp — *Schizosaccharomyces pombe*, Ce — *Caenorhabditis elegans*, Mm — *Mus musculus*. По оси абсцисс — аминокислотная последовательность белка, по оси ординат — вероятность (в долях) формирования альфа-спиральной конфигурации. По: Гришаева и др., 2010.

Исследование набора и последовательности консервативных мотивов внутри домена IRR1 показало, что у дрожжей, арабидопсиса и нематоды нет никакого сходства по набору консервативных мотивов с другими объектами. У дрозофилы и позвоночных был выявлен одинаковый набор мотивов для всех белков STAG, в том числе мейотических. Таким образом, по набору консервативных мотивов внутри домена IRR1 митотические и мейотические формы когезиновых белков не различаются. Аналогично были проанализированы целые молекулы SCC3/STAG у всех объектов (рис. 16.7). Было показано существенное сходство стромалинов между крупными таксонами эукариот, по крайней мере, от насекомых (*Dm*) и червей (*Ce*) до человека (*Hs*). Особенно сильное сходство выявлено в пределах класса млекопитающих (Гришаева и др., 2008, 2010).

Небольшие различия между митотическими и мейотическими формами когезиновых белков STAG сами по себе не могли объяснить довольно серьезную смену функции мейотических когезинов по сравнению с митотическими. Был проведен дополнительный анализ — изучена вторичная структура стромалинов (вероятность формирования альфа-спиральной конфигурации). В молекулах всех изученных белков, кроме Rec11 дрожжей *S. pombe*, в районе 200-го а.к. остатка был выявлен ярко выраженный альфа-спиральный участок (у арабидопсиса он сдвинут к середине молекулы) (рис. 16.8). Этот пик можно считать диагностическим признаком

стромалинов. Именно в этом районе Пецци с соавторами (Pezzi et al., 2000) обнаружил консервативный домен SCD. В этом же районе был выявлен функциональный домен IRR1/STAG (Гришаева, Богданов, не опубликовано).

У млекопитающих все белки STAG четко разделяются по вторичной структуре на три группы — STAG1, STAG2 и STAG3 (рис. 16.8, нижний ряд) — с очень высоким сходством в пределах групп. Можно сделать вывод о том, что вторичная структура стромалинов является надежным диагностическим параметром для идентификации мейотических форм STAG.

Альфа-спиральная конфигурация, как известно, необходима для белок-белкового взаимодействия (Shoeman, Traub, 1993). Молекулы SCC3/SA/STAG совместно с SCC3/RAD21 замыкают когезиновое кольцо, состоящее из SMC1 и SMC3 (Peters et al., 2008). Именно SCC3/SA/STAG играет ключевую роль в ряде процессов, проходящих с участием когезинового комплекса. Прежде всего, это раннее освобождение когезинов из хромосомных плеч в профазе митоза (по поводу мейоза пока не все понятно). Кроме того, это активация транскрипции, взаимодействие с некоторыми инсуляторами и другие явления (Barbero, 2009). Есть данные о том, что после S-фазы клеточного цикла каждая хроматида может быть окружена своими когезиновыми кольцами, которые при формировании когезии сестринских хроматид соединяются попарно через молекулы SCC3/SA/STAG. Стабилизация «димера» из двух колец может осуществляться дополнительными белками WAPL/Rad61 и Pds5, также взаимодействующими с SCC3 (Zhang et al., 2008; Skibbens, 2009).

Таким образом, на примере двух компонентов когезинового комплекса можно видеть разные пути перестройки молекулы в связи со сменой функций когезинов в мейозе по сравнению с митозом. У пары RAD21/REC8 меняется набор консервативных аминокислотных мотивов, т.е. идёт перестройка первичной структуры. Вторичная структура как соматических, так и мейотических форм весьма разнообразна и не показывает каких-либо закономерных изменений. У стромалинов STAG1-STAG3 при небольших изменениях первичной структуры заметно меняется вторичная. По этому параметру отличаются как мейотические гомологи STAG3 от митотических, так и митотические STAG1 и STAG2 друг от друга.

Почему два компонента одного когезинового комплекса так различаются по консервативности первичной и вторичной структуры? Возможны три варианта объяснения. Во-первых, клейсины RAD21/REC8 при всех своих многочисленных функциях (Ishiguro et al., 2011) выступают как белок когезии, тогда как стромалины являются регуляторами транскрипции (STAG2) и организаторами хроматина путём контакта с инсуляторами через белок CTCF (STAG1) (Nasmyth, Haering, 2009; Barbero, 2009). Видимо, для выполнения этих функций нужна определённая пространственная организация молекулы.

Во-вторых, набор партнёров у клейсинов более изменчив, чем у стромалинов (как при переходе от вида к виду, так и от митоза к мейозу). При переходе от митоза к мейозу меняются как STAG, так и SMC1 (Revenkova, Jessberger, 2006). Из добавочных компонентов варьируют также шугошины — защитники центральной когезии (SGO1 и SGO2) (Nasmyth, Haering, 2009). Остальные партнёры стабильны (Wapl, PP2A, Pds5) (Shintomi, Hirano, 2010). У стромалинов меняющийся партнёр только один — RAD21/REC8. Возможно, мейотический STAG3 отвечает именно

за взаимодействие с REC8. Остальные партнёры — WAPL, Pds5, CTCF, факторы транскрипции (Barbero, 2009; Shintomi, Hirano, 2010).

В-третьих, в ряде случаев требуется изменение конформации когезинового кольца (при прохождении вилки репликации или для размыкания кольца после фосфорилирования стромалина в профазе митоза и, возможно, мейоза). Это изменение конформации может достигаться за счёт гибкости молекулы клейсина (Barbero, 2009; Shintomi, Hirano, 2010).

Таким образом, можно предположить, что для стромалинов SA/STAG важнее определённая пространственная конфигурация и высокая консервативность, а клейсины RAD21/REC8 должны быть более гибкими и вариабельными в эволюционном плане.

Общий вывод, вытекающий из сравнительного исследования компонентов когезинового комплекса методами биоинформатики, таков: разные компоненты когезинового комплекса для выполнения специфических мейотических задач используют разные конструктивные решения. Можно также предположить, что такая вариабельность мейотических форм белков — это отражение их относительной эволюционной молодости по сравнению с белками митоза и эволюционной молодости самого мейоза по сравнению с более консервативным митозом.

## **Мейотические формы шугошинов — протекторов когезии центромер — не являются консервативным семейством белков**

Шугошины (SGO) — это семейство белков, которые защищают когезию центромерных районов хроматид до наступления анафазы митоза, а также во время всего первого деления мейоза (мейоз I). В результате этого в анафазе I мейоза сестринские хроматиды не могут разойтись к полюсам клеточного деления, и вместо этого расходятся гомологичные хромосомы, состоящие из двух сестринских хроматид; число хромосом становится гаплоидным. Таким образом, функция шугошинов необходима для правильной сегрегации сестринских хроматид во время митоза и мейоза II и гомологичных хромосом в мейозе I.

Некоторые организмы имеют одну форму шугошинов — SGO1 (*S. cerevisiae*, *Neurospora crassa*, *Zea mays*), у других выявлены две формы, выполняющие разные функции в митозе и мейозе. У растения *A. thaliana* и дрожжей *S. pombe* роль мейотической формы выполняет SGO1, у позвоночных, включая *Homo sapiens*, эту роль играет SGOL2 (SGO-like 2). SGO1 и SGO2 различаются размером молекулы и их ролью в митозе и мейозе по отношению к защите центромерной когезии.

Шугошины считались консервативным семейством белков, чьи представители имеют, в первом приближении, одинаковые функции, общую локализацию, общие белки-партнёры, но при сравнении их у разных растений и животных обладают достаточно высоким сходством только в пределах N- и C-концевых участков (Kitajima et al., 2004; Rabitsch et al., 2004; Watanabe, 2005; Hamant et al., 2005; Gomez et al., 2007; Wang et al., 2011). Однако в последние годы ряд авторов обращает внимание

и на сильное различие аминокислотных последовательностей, и на различие некоторых дополнительных функций у шугошинов в зависимости от исследуемого вида (Gutiérrez-Caballero et al., 2012; Zamariola et al., 2013).

Разделение шугошинов на мейотические и митотические достаточно условно. Мейотической и митотической формами шугошины являются только по отношению к главной функции — защите центромерной когезии, да и то не у всех организмов. Необходимо было найти структурные особенности мейотических шугошинов, которые могли бы объяснить их объединение в одну функциональную группу.

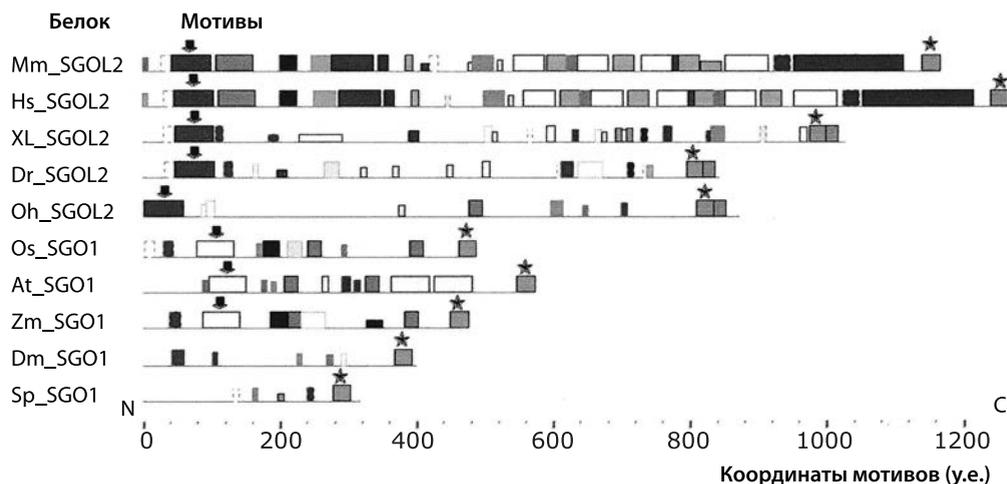
Для решения этого вопроса было исследовано компьютерными методами 32 белка-шугошина из протеомов 25 видов эукариот (Grishaeva et al., 2016). Среди изученных видов — три представителя царства растений, 12 представителей царства грибов, пять видов беспозвоночных животных и пять видов позвоночных (табл. 16.1).

Таблица 16.1.

Белки-шугошины, отобранные для дальнейшего исследования: их названия, употребляемые в настоящей работе, и длина молекулы (количество аминокислотных остатков).

Название белка	Длина, а.к.	Название белка	Длина, а.к.
Sgo1 Sp*	319	SGO1 Dm (MEI-S332)	401
Sgo2 Sp	647	SGO1 Ce	307
Sgo1 Sc	590	SGO1 Cb	306
Sgo1 Nc	774	SGO1 Bm	1107**
Sgo1 Ag	648	SGO1 Ci	426**
Sgo1 Mg	552**	SGOL1 XI (SGO-like)	663
Sgo1 Mo	544**	SGOL2 XI	1029
Sgo1 Vv	621	SGOL1 Oh, partial	553
Sgo1 Tv	636**	SGOL2 Oh, partial	874
Sgo1 Yl	823**	SGOL1 Dr	618
Sgo1 Tm	659	SGOL2 Dr	847
Sgo1 An	479	SGOL1 Mm	517
Sgo1 Cg	603	SGOL2 Mm	1164
SGO1 At	572	SGOL1 Hs	561
SGO2 At	419	SGOL2 Hs	1265
SGO1 Os	486		
SGO1 Zm	474		

\* Грибы: Sp — *Schizosaccharomyces pombe*, Sc — *Saccharomyces cerevisiae*, Nc — *Neurospora crassa*, Ag — *Ashbya gossipii*, Mg — *Magnaporthe grisea*, Mo — *Magnaporthe oryzae*, Vv — *Villosiclava virens*, Tv — *Trichoderma virens*, Yl — *Yarrowia lipolytica*, Tm — *Talaromyces marneffeii*, An — *Aspergillus nidulans*, Cg — *Candida glabrata*; растения: At — *Arabidopsis thaliana*, Os — *Oryza sativa*, Zm — *Zea mays*; насекомое Dm — *Drosophila melanogaster*, нематоды: Ce — *Caenorhabditis elegans*, Cb — *Caenorhabditis briggsae*, Bm — *Brugia malayi*, асцидия Ci — *Ciona intestinalis*; позвоночные: XI — *Xenopus laevis*, Oh — *Ophiophagus hannah*, Dr — *Danio rerio*, Mm — *Mus musculus*, Hs — *Homo sapiens*. \*\* В аннотации белка указано: предсказанный белок, или гипотетический белок, или другое. В остальных случаях — шугошин.



**Рис. 16.9.** Последовательность консервативных аминокислотных мотивов в молекулах мейотических форм шугошинов.

Обозначения видов — как в табл. 16.1. Шкала обозначает аминокислотную последовательность белка от N-конца к С-концу. Одинаковые мотивы показаны прямоугольниками одного оттенка и размера. Подробности в тексте. По: Grishaeva et al., 2016.

Почти в половине случаев в молекулах исследованных шугошинов не были выявлены функциональные домены, причём как в предсказанных белках, так и в исследованных экспериментально. Видимо, первичная структура условно консервативных доменов шугошинов значительно отличается в разных царствах эукариот. Подобная ситуация нередка для структурных белков мейоза. Например, члены семейства когезинового белка *Scc1/RAD21/REC8* различаются по набору консервативных аминокислотных мотивов даже в пределах функционального когезинового домена (Bogdanov et al., 2007; Гришаева и др., 2007). Представители другого семейства когезинов — стромалины *Scc3/SA/STAG* — консервативны только у позвоночных животных и имеют весьма малое сходство с соответствующими белками низших эукариот (см. выше).

Были также исследованы другие параметры белков, характеризующие их свойства. Вторичная структура шугошинов, в частности, способность формировать  $\alpha$ -спираль, оказалась более типичной. У тех шугошинов, у которых был выявлен N-концевой функциональный домен,  $\alpha$ -спираль колокализовалась с этим доменом. Это дало возможность предположить, что и другие шугошины, формирующие  $\alpha$ -спираль, тоже имеют N-концевой функциональный домен. Таким образом, по вторичной структуре шугошины действительно представляют собой консервативное семейство, но эта структура в равной мере присуща как мейотическим, так и митотическим шугошинам (Grishaeva et al., 2016).

Была выявлена важная закономерность. Практически у всех типов шугошина N-концевой пик положительного заряда предшествовал  $\alpha$ -спиральному участку,

хотя существовали и исключения из этого правила. По этому признаку мейотические шугошины не отличались от других шугошинов. Пик положительного заряда строго колокализировался с С-концевым доменом в тех случаях, когда этот домен являлся специальной программой.

Была также проанализирована комбинация консервативных аминокислотных мотивов в молекулах шугошинов. Мейотические формы шугошинов имели весьма малое сходство. Единственный мотив, который прослеживался у всех белков — С-концевой (рис. 16.9, обозначен звёздочкой). Общие N-концевые мотивы, совпадающие по локализации с функциональными доменами, были найдены в двух группах: у позвоночных животных (на рис. 16.9 тёмные прямоугольники, обозначенные стрелками) и у растений (светлые прямоугольники, помеченные стрелками). При сравнении между собой белков из группы митотических шугошинов можно было заметить ещё меньшее сходство.

Изучение комбинации консервативных аминокислотных мотивов в молекулах шугошинов, распределения зарядов вдоль белковых молекул и их изоэлектрических точек позволило заключить, что разделение этих белков на мейотические и митотические, сделанное по выполняемым функциям, не имеет под собой какой-либо структурной основы, кроме обязательного наличия на С-конце у мейотических белков небольшого высоко консервативного домена (или мотива, если домен не определяется) (рис. 16.9). Этот небольшой домен необходим для точной локализации шугошина в районе центромеры (Wang et al., 2011). У мейотических шугошинов этот домен обогащён аргинином («аргининовая гребёнка»); особенно это характерно для позвоночных (Grishaeva et al., 2016). Такие фрагменты белка способны к взаимодействию с остатками гуанина в малой канавке спирали ДНК, что, возможно, в комбинации с другими факторами защищает мейотический шугошин от гидролиза.

Таким образом, сравнение митотических и мейотических шугошинов не выявило значительного отличия этих групп друг от друга. Сходство внутри этих групп было невысоким. Большее сходство шугошинов по целому ряду параметров было выявлено внутри других групп — SGO2 и особенно SGO1. При этом наблюдалось явное различие шугошинов у представителей разных царств эукариот (рис. 16.9).

Возможно, для SGOL2 защита когезии — не самая важная функция, а важны другие функции (которые в ходе эволюции появились у шугошинов типа Sgo2 таких примитивных эукариот, как *S. pombe*). По мере усложнения геномов этот шугошин приобретал всё новые функции. Так, у человека шугошин SGOL2 направляет в центромеру кинезин МСАК, который деполимеризует неправильно прикрепленные микротрубочки веретена деления. Тот же шугошин у *X. laevis* регулирует сборку веретена, выполняемую комплексом CPC (Gutiérrez-Caballero et al., 2012).

Наоборот, SGOL1 сохранил функцию защиты когезии, но только в митозе. Если учитывать, что у высших эукариот снятие когезии в мейозе происходит в два этапа (сначала в плечах хромосом — так называемый *prophase pathway*, — потом в центромере), то понятно, что эта функция действительно важна. Но она сохранилась именно у SGO1, а не перешла к мейотической форме SGO2. Замариола с соавторами высказали мысль, что первоначальной функцией шугошинов была защита центромерной когезии в мейозе и что способность защищать когезию в митозе SGOL1 приобрёл у позвоночных (Zamariola et al., 2013). Возможна и альтернативная точка

зрения: что первоначальной функцией шугошина была чувствительность к натяжению микротрубочек и направление комплекса CPC к центромере (Watanabe, 2005).

Из приведённых данных можно сделать несколько выводов. Во-первых, мейотические шугошины объединены в одно семейство скорее по функции, чем по параметрам, характеризующим их структуру. Во-вторых, в разных линиях развития многоклеточных организмов (Cock et al., 2011), а именно, у растений, грибов и животных мейотической формой независимо и по до сих пор неясному принципу (возможно, по способности взаимодействовать с другими вспомогательными белками) становился либо шугошин SGO1, либо SGO2.

## Глава 17.

# Проблема эволюции мейоза

В главе приводятся факты и умозаключения в пользу того, что мейоз возник на основе соединения двух явлений клеточного метаболизма: репарации поврежденных ДНК путём гомологичной рекомбинации и появления белковых осей хромосом. В ходе эволюции оси сохранились у некоторых современных одноклеточных эукариот как «линейные элементы» хромосом, а у высших эукариот они превратились в латеральные элементы синаптонемных комплексов (СК). Рекомбинация гомологичных хромосом, стабилизированная белковыми осями или СК, позволила создать структурные хиазмы. Они оказались обязательными для попарного соединения гомологичных хромосом на экваторе клеточного деления. Благодаря хиазмам и формированию униполярности кинетохоров сложился механизм сегрегации гомологичных хромосом. Эта униполярность обусловлена «склеенным» состоянием («нерасщеплением») центромерных районов сестринских хроматид из-за того, что когезины, склеивающие центромеры сестринских хроматид в мейозе I, защищены таким вариантом белка шугошина, который стал специфичным для мейоза. Он активен только во время одного клеточного цикла (мейоз I) и инактивируется в мейозе II, освобождая центромеры сестринских хроматид для расхождения к разным полюсам в мейозе II. Ферменты рекомбинации прикрепляются к линейным элементам хромосом или латеральным элементам СК, а линейная упорядоченность латеральных петель ДНК облегчает хромосомным локусам взаимный поиск гомологии для спаривания. Сначала линейные элементы хромосом, а затем СК стали компартментами локализации белков, необходимых для рекомбинации ДНК, — комплекса Mus81-Mms4 и комплекса ZMM. Последний связан с формированием СК, обеспечивает интерференцию кроссинговера и присущ наиболее высоко организованным эукариотам. Организмы, обладающие этим комплексом, не теряют и комплекс Mus81-Mms4. Однако СК стали прогрессивным морфологическим (ультраструктурным) приобретением в ходе эволюции редукционного деления клеток. В главе приводятся результаты исследования мейоза у современных одноклеточных организмов, которых можно считать наиболее близкими к древним эукариотам. Обсуждаются также примеры исключений из правил канонического мейоза и объясняется их место по отношению к главному направлению эволюции мейоза.

До появления возможности проводить секвенирование геномов можно было реконструировать историю возникновения и эволюции мейоза только на основе изучения современных низших эукариот. Палеонтология по понятным причинам не может дать материала о строении клеточного ядра древних эукариот. Оставалось надеяться на то, что ныне живущие низшие эукариоты сохранили признаки своих предков, живших на планете Земля несколько сотен миллионов лет назад.

Широко распространено представление о том, что мейоз возник на базе митоза — более простого вида клеточного деления, обеспечивающего постоянство числа хромосом в ряду поколений клеток многоклеточных организмов. Многими ис-

следователями признается происхождение мейоза из митоза (Райков, 1978; Raikov, 1995; Maguire, 1992; Серавин, Гудков, 1999; и др.). Митоз как универсальное клеточное деление, присущее всем современным эукариотам, сам возник на основе замечательного морфоза высшего порядка, каким оказался митотический аппарат: белковое веретено и кинетохоры хромосом. По сравнению с митозом мейоз — это более новое эволюционное приобретение древних одноклеточных организмов. Возможно, оно возникло вместе с возникновением эукариот (Egel, Penny, 2007).

Крупномасштабная расшифровка (секвенирование) геномов архей и эукариот и построение филогенетических деревьев показали, что их нужно считать сестринскими линиями, ветвями общего дерева, «выросшего» из бактерий. В этих линиях были обнаружены кластеры родственных белков аппарата трансляции РНК и репликации ДНК. На основе результатов расшифровки структуры геномов и протеомов можно судить о происхождении мейоза.

Расшифровка полного набора белков, преимущественно транслируемых в клетках, делящихся путем мейоза (мейотического протеома), впервые была проделана на почкующихся дрожжах *Saccharomyces cerevisiae* (Chu et al., 2002; Mata et al., 2002). Некоторые из этих белков оказались специфичными для *S. cerevisiae*, другие — для грибов вообще, но некоторые имели ортологи среди других эукариот. Немногие из них имеют ортологи во всех филумах эукариот, и они наиболее важны для понимания путей эволюции мейоза. Было введено понятие «стержневого (core) механизма мейотической рекомбинации» (Villeneuve, Hillers, 2001). Рамеш и соавторы (Ramesh et al., 2005) показали, что этим «стержневым» набором обладает древняя линия Girada протистов. Этот набор состоит из двух групп белков: белков, общих для митоза и мейоза, и белков, специфичных для мейоза. Ниже мы приводим перечень этих белков, классифицированных по группам в фундаментальной обзорной статье датских авторов (Egel, Penny, 2007).

(1) Белки, формирующие волокна, необходимые для выравнивания и спаривания гомологов (Hop1, Hop2, Mnd1).

(2) Двунитевые разрывы ДНК (DSBs) индуцируются эндонуклеазой Spo11 — родственником архейной топоизомеразы TopoVI.

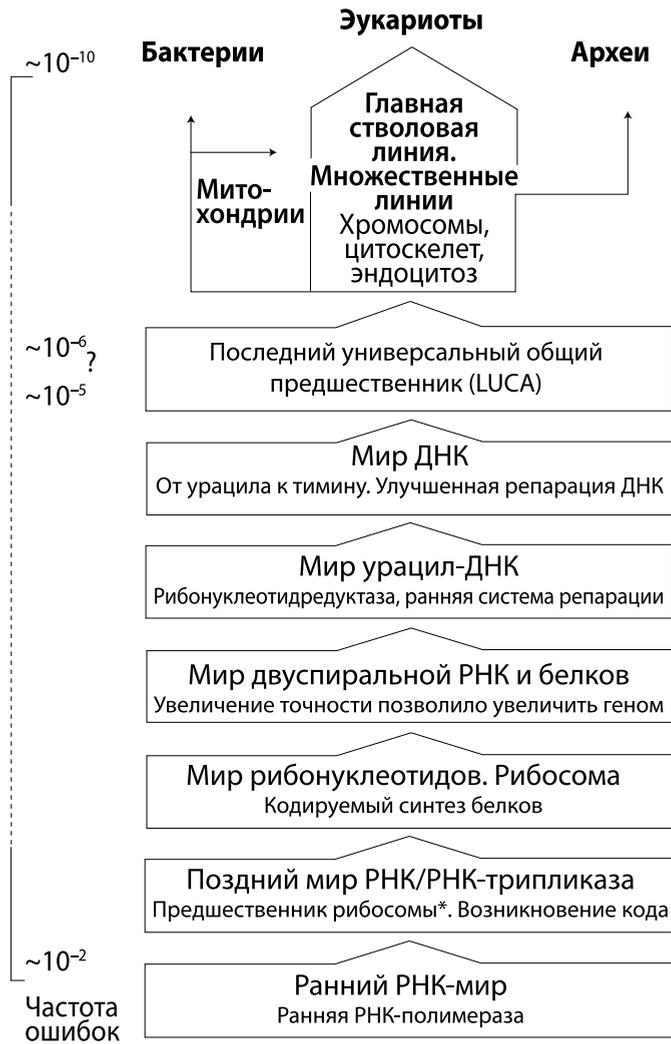
(3) 5'-конец ДНК рестрицируется нуклеазами Rad52 и Mre11.

(4) Rad52 мобилизует (подготавливает) 3'-конец однонитевой ДНК для формирования нуклеопротеидного филамента с белками Rad51 и Dmc1, поиска гомологичной последовательности (в сестринской или несестринской хроматидах) и формирования гетеродуплекса с этой гомологичной последовательностью.

(5) Гетеродуплекс ДНК процессируется с помощью ферментативного механизма репарации, в котором принимают участие белки Mlh1, Mlh2, Mlh3, Rms1, Msh2, Msh6, Msh4, Msh5.

## Предыстория мейоза

Согласно современным представлениям, эукариоты возникли от общего предка с архебактериями (археями) — более высокоорганизованными одноклеточными, чем эубактерии (Woese et al., 1990; Woese, 2002; Марков, Куликов, 2005) (см. рис. 17.1). Мейоз возник путем изменения структуры хромосом на одной из фаз



**Рис. 17.1.** Гипотетический путь возникновения эукариот

Значком \* показано место изъятой из оригинального рисунка (для экономии места) надписи «функция тРНК». По Egel, Penny, 2007 с сокращением.

жизненного цикла одноклеточных организмов. Естественно, сначала появился сам цикл и его фазы, а именно, фаза жизненного цикла, предположительно вызванная голоданием и потребностью уменьшить объем и массу одноклеточного организма (Sagan, Margulis, 1987). Предполагается, что первоначально эта редукция массы осуществлялась путем серии «редукционных амитозов» или «редукционных митозов» (Maguire, 1992; Серавин, Гудков, 1999).

**Архаичный вариант предотвращения полиплоидизации.** Архаичный механизм клеточного деления был действительно обнаружен у амёб. Эта находка служит очень серьёзным доказательством существования указанных выше в кавычках способов делений — прообразов мейоза. Это подобие древнего механизма, предотвращающего полиплоидизацию после конъюгации двух диплоидных клеток. Этот далёкий от совершенства способ деления клеток всё же сохраняет периодическое возвращение к диплоидии. Такое деление обнаружено у агамных амёб *Ameoba proteus* и *A. borokensis* (Дёмин и др., 2018). Авторы называли это явление и его механизм деполиплоидизацией. У этих амёб, живущих в виде бесполой клонов в лабораторной культуре, изучен цикл чередующихся явлений эндополиплоидизации и деполиплоидизации. Эти амёбы делятся путем митоза. После телофазы у них нет  $G_2$ -периода и сразу происходит эндоредупликация ДНК. В результате образуются клетки с ядрами, содержащими ДНК больше, чем в диплоидном наборе хромосом, но меньше тетраплоидного (Afon'kin, 1986; Махлин, 1993). Применение дифференциальной окраски хромосом (бэндинга) и оптической томографии (конфокальной микроскопии) позволило установить следующую картину. (1) На стадии профазы митоза клетки амёб содержат по 4 или по 8 гомологов хромосом среднего размера, но только по 2, реже по 3 гомолога более крупных, маркерных хромосом. Это означает, что в интерфазе проходит неодинаковое число циклов репликации в разных хромосомах. (2) В метафазе и телофазе у *A. proteus* обнаружено  $2n=54$  хромосом, а у *A. borokensis* — только гаплоидное число  $n=27$  (Дёмин и др., 2018). (3) Во время интерфазы и профазы наблюдается экструзия диффузного и конденсированного хроматина и даже целых хромосом из ядра в цитоплазму, в которой активную роль играет ядерная мембрана и цитоплазматический цитоскелет (Дёмин и др., 2016, 2017). Таким образом, агамные амёбы, не имея мейоза, поддерживают диплоидию лишь на короткой части цикла размножения и тем самым удерживаются от эскалации числа хромосом. Одновременно с этим они могут использовать преимущества гиперплоидии некоторых хромосом. Но, может быть, они могут страдать от неё. Не ясно, является ли описанный механизм древним, возникшим до появления канонического мейоза, или же он сложился после потери этими амёбами способности размножаться половым путем. В любом случае, такая циклическая деполиплоидизация может помогать амёбам избегать накопления груза вредных мутаций. Именно такую функцию выполняет и канонический мейоз (Чубыкин, 2010).

**Предполагаемый путь возникновения мейоза.** Древние прокариоты, размножившись на основе механизма конвариантной редупликации ДНК (репликации ДНК с жизнеспособными вариантами), не могли оставлять подобное себе потомство без системы репарации ДНК. Репарация ДНК стала имманентным свойством жизни, основанной на ДНК. Она обеспечивала защиту прокариотического генома от ошибок репликации и от разнообразных повреждений, наносимых внешней и внутриклеточной средой.

Простой ферментативный механизм ликвидации разрывов ДНК — соединение фрагментов ДНК с помощью лигазы — не защищает от потери нуклеотидов. Наиболее корректный механизм репарации — репарация на основе неповрежденной матрицы ДНК. Теперь мы называем этот вариант репарацией на основе гомологии.

Одним из вариантов такой репарации стала гомологичная рекомбинация. Её схема была гипотетически описана разными авторами. Наиболее экспериментально оправ-

данным оказался механизм, предложенный Холлидеем (см. гл. 4). Одним из вариантов реализации (освобождения от соединения двух гомологичных молекул ДНК) явилось освобождение после взаимного обмена сегментами. Состоявшийся взаимный обмен сегментами двух гомологичных молекул — кроссинговер — оказался выгодным для обмена генами, для комбинаторики, дающей материал для естественного отбора удачных (приспособленных) вариантов. Так возник половой процесс прокариот. Эукариоты унаследовали механизм гомологичной рекомбинации. Диплоидия стала полезным способом избежать гибели при летальных мутациях в одной из двух гомологичных хромосом. Попарное соединение гомологичных хромосом у диплоидов в ходе полового процесса (в простейшем случае — сразу после образования диплоидной клетки (вспомним зиготный мейоз), а для длительного выживания — в конце помехоустойчивой диплоидной фазы (гаметный мейоз)) стало не только удобным способом рекомбинации двух хромосом, но и способом их «сортировки» на гомологов и негомологов для точной редукции их числа — гаплоидизации. Такая сортировка в ходе естественного отбора одноклеточных организмов оказалась наилучшим способом для деплоидизации (см. выше). Естественно, репликация, репарация, рекомбинация ДНК невозможны без участия белков, ферментов, промоторов, модификаторов. Появление белковых осей хромосом было важным явлением для образования фазы рекомбинации ДНК в жизненном цикле древних одноклеточных организмов. Появление и исчезновение белковых осей хромосом, несущих на себе белки рекомбинации, — рациональный структурный регулятор цикла рекомбинации, который стал одновременно этапом полового процесса и этапом гаплоидизации диплоидов. Циклически появляющиеся и исчезающие хромосомные оси, когда они несут на себе циклически востребованные ферменты и белки-сателлиты ферментов, — это хорошие регуляторы начала и прекращения полового процесса в жизненном цикле одноклеточного организма. Для появления в клетке таких белковых осей нужно запретить вегетативный метаболизм. Это происходит, когда одноклеточный организм попадает в голодную среду (см. гл. 9). Тогда включается «метаболизм спасения» — прекращаются синтезы белков домашнего хозяйства, весь аппарат синтеза белков (руководимый генами) и весь энергетический метаболизм переходят к созданию хромосомных осей с находящимися на них белками рекомбинации. Это комплекс Mus81-Mms4 и комплекс ZMM. Последний связан с формированием СК, обеспечивает интерференцию кроссинговера и присущ наиболее высоко организованным эукариотам. Организмы, обладающие этим комплексом, не теряют и комплекс Mus81-Mms4. Синаптонемные комплексы — это наиболее прогрессивный вариант белковых осей рекомбинирующих хромосом. В ходе естественного отбора циклическое появление хромосомных осей, несущих белки рекомбинации, возникновение хиазм и наиболее совершенного варианта хромосомных осей — синаптонемных комплексов — стало серией морфозов высшего порядка (ароморфозов по А.Н. Северцову), которые привели к возникновению мейоза. Таким образом, СК стали выполнять несколько функций (Богданов. 2003, 2008): (1) рациональной организации массивных хромосом в виде линейной серии модулей, удобных для выравнивания и узнавания гомологов; (2) компартиментов белков-инструментов рекомбинации; (3) организаторов интерференции рекомбинации; (4) стабилизаторов хиазм, необходимых для корректной гаплоидизации.

Рекомбинация гомологичных хромосом, стабилизированная белковыми осями или СК, позволила создать структурные хиазмы. Они оказались обязательными для попарного соединения гомологичных хромосом на экваторе клеточного деления. Благодаря хиазмам и формированию униполярности кинетохоров сложился механизм сегрегации гомологичных хромосом. Эта униполярность обусловлена «склеенным» состоянием («нерасщеплением») центральных районов сестринских хроматид из-за того, что когезины, склеивающие центромеры сестринских хроматид в мейозе I, защищены таким вариантом белка шугошина, который стал специфичным для мейоза. Он активен только во время одного клеточного цикла (мейоз I) и инактивируется в мейозе II, освобождая центромеры сестринских хроматид для расхождения к разным полюсам в мейозе II.

### **Нетрадиционный взгляд на роль кроссинговера в биологической эволюции**

Роль кроссинговера в эволюционном становлении классического мейоза состоит, главным образом, не в том, что он повысил комбинативную способность хромосом, рекомбинируя группы сцепления генов, а в том, что именно благодаря кроссинговеру в ходе прогрессивной эволюции одноклеточных организмов возникли хиазмы, соединяющие попарно гомологичные хромосомы. Поэтому и сформировался классический мейоз. Иными словами, биологическая роль кроссинговера состоит, в первую очередь, в создании и поддержании наиболее прогрессивного из известных нам механизмов для редукции числа хромосом в ходе первой фазы полового процесса (гаметогенеза, спорогенеза) у эукариот. Только признавая, что механизм кроссинговера и порожденные им хиазмы оказались выгодными для создания фундаментального и биологически важного явления — редукции числа хромосом, — можно говорить о явно вторичной роли кроссинговера в эволюции, а именно, о его роли в повышении комбинаторики генов. О ней генетики ошибочно привыкли говорить как о самой важной роли кроссинговера и насытили этой мыслью многие, в том числе полезные, монографии и учебники. Мысль о первичной роли кроссинговера в создании мейоза была высказана Мерреем и Шостаком (Murray, Szostak, 1985), хотя не исключено, что она высказывалась раньше (может быть, Дарингтоном, C. Darlington). Их мысль полностью разделяется нами. Анализ эволюционной ценности рекомбинации, основанной лишь на комбинаторике независимо сегрегирующих хромосом, в сравнении с ценностью рекомбинации сцепленных генов приведен в теоретической статье Магуайер (Maguire, 1992). Прежде всего, Магуайер соглашается с тем, что рекомбинация создает преимущество в приспособлении популяций организмов к изменениям во внешней среде, если происходит селекция на оптимальный фенотип. Далее Магуайер сравнивает два вида рекомбинации и, вслед за Кроу (Crow, 1988) и Мейнардом Смитом (Maynard Smith, 1988), считает, что сочетание независимо наследуемых генов (групп сцепления) может быть иногда более важным, чем сочетание, возникающее путем кроссинговера внутри групп сцепленных генов. Например, сочетание независимо наследуемых генов более важно для организма с числом пар хромо-

сом больше двух (Crow, 1988; Kirpatric, Jenkins, 1989). Более того, у одного из полов некоторых организмов кроссинговер был элиминирован в ходе эволюции (например, у самцов дрозофилы), и очень малое число эукариотических организмов имеет лишь две пары хромосом. Организмы с одной или двумя парами хромосом (например, нематода *Ascaris megalocephala*, растение *Haplopappus gracilis*), вероятно, имеют кроссинговер, и для них он должен играть более важную роль, чем независимая сегрегация отцовских и материнских хромосом каждой пары. Далее цитируем слова Магуайер: «...было рассчитано, что преимущество независимой сегрегации гомологичных хромосом (и генов) у организмов, размножающихся половым путем, может в два раза превосходить репродуктивные преимущества бесполого размножения (Crow, 1988). При наличии такой сегрегации единичная полезная мутация может реально стать гомозиготной. Хотя существует мало бесполок видов эукариот, как правило, их взаимоотношение с формами, размножающимися половым путем, позволяет считать, что они эволюционировали (произошли) относительно недавно из размножающихся половым путем предков» (Maguire, 1992). Таким образом, представление о том, что роль кроссинговера и хиазм в редукции числа хромосом была первичной для формирования мейоза, а преимущества, приносимые кроссинговером как фактором рекомбинации сцепленных генов, оказались следствием и дополнительным фактором в ходе становления мейоза, не является необычным. Оно может казаться необычным только эволюционистам, недостаточно знакомым с цитологическим механизмом мейоза. Такая точка зрения, безусловно, воспримется многочисленными специалистами в области генетических основ эволюции как ересь. Это хорошо, ибо история науки полна примерами того, как то, что сначала воспринималось как ересь, затем становилось точкой нового роста в науке и общепризнанным правилом.

## Исследование мейоза у одноклеточных организмов — ресурс для изучения эволюции мейоза

Комплекс белков ZMM может служить маркером существования мейоз-специфичного метаболизма у исследуемого организма. Впрочем, роль такого маркера могут выполнять и другие мейоз-специфические белки. Используя такой «инструмент», австрийский исследователь Лойдл (Loidl, 2016) зондировал все доступные базы данных о генах и белках одноклеточных организмов и составил довольно интересный список находок. Исследовать жизненные циклы одноклеточных организмов с целью обнаружения признаков мейоза чрезвычайно трудно и без предварительной разведки непродуктивно. Поэтому «Список Лойдла» можно использовать для дальнейших прицельных исследований, и мы приводим его ниже.

**Признаки мейоза у жгутиконосцев группы *Excavata*.** Супергруппа *Excavata* включает одноклеточных жгутиковых с разными типами питания, в том числе свободно живущих фотоавтотрофных, например, *Euglena gracilis*, но также и патогенов человека, таких как трипаносомы, лейшмании и *Giardia*. Эта супергруппа может содержать очень рано возникших эукариот (Ramesh et al., 2005; He et al., 2014). Хотя половое размножение у большинства видов группы отсутствует, у *Trypanosoma brucei* были иден-

тифицированы гомологи четырёх мейоз-специфичных генов (*SPO11*, *DMC1*, *MND1* и *HOP1*), а три из них (*DMC1*, *MND1* и *HOP1*) были приписаны к определённым стадиям развития трипаномы. Кроме того, идентификация гаплоидного поколения и выявление слияния клеток подтверждают существование мейоза и полового цикла репродукции (Peacock et al., 2014, цит. по Loidl, 2016). Сам мейотический процесс не наблюдали ни у одного из представителей таксона *Excavata*, нет также доказательств существования у них мейотических СК. По мнению Лойдла, наблюдаемые процессы могут быть «реликтами дегенерировавшего мейоза». Но с таким же основанием их можно считать признаками существования мейоза у более древних предшественников *Trypanosoma brucei* или свидетелями того, что происходил процесс эволюционного становления комплекса метаболических процессов, необходимого для мейоза.

**Признаки мейоза у *Alveolata*.** Мейоз, видимо, присутствует у некоторых альвеолят (большой группы простейших), тогда как у других присутствуют необычные проявления мейоза. Ограниченные доказательства наводят на мысль, что канонический мейоз проходит у малярийного паразита *Plasmodium falciparum*. У него формируется СК (Raikov, 1995), и стадия профазы I кажется нормальной (Sinden, Hartley, 1985, цит. по Loidl, 2016). Наоборот, необычные черты, в основном, неполный СК, наблюдали в мейозе у других ресничных инфузорий (*Ciliata*), включая *Tetrahymena thermophila*, организм с наиболее изученным мейозом за пределами группы классических модельных организмов.

У *Tetrahymena* цитологический анализ не выявил классического СК, а биоинформатический анализ также не выявил наличие белков, связанных с СК (Wolfe et al., 1976, цит. по Loidl, 2016; Chi et al., 2014). С другой стороны, иммуноокрашивание до сих пор неидентифицированного фосфорилированного белка выявило тонкие нити в ядрах на стадии мейотической профазы. Эти нити напоминают линейные элементы *S. pombe* (см. гл. 9).

Невозможность обнаружить белки СК у *Tetrahymena* вызывает вопрос, обладают ли другие *Ciliata* этой структурой? У *Paramecium tetraurelia*, *Ichthyophthirius multifiliis* и *Oxytricha trifallax* не обнаружены гены *HOP1*, *RED1* и *ZIP1*, но исследователи (Chi et al., 2014) наблюдали у *Stylonychia mytilus* (одноклеточного организма, родственного *O. trifallax*) структуры, похожие на осевые элементы мейотических хромосом. Кроме того, электронно-микроскопические исследования выявили полосы СК-подобного материала или фрагментарные СК у разных *Ciliata*, но не выявили полного канонического СК (см. Chi et al., 2014). Наоборот, нормальные СК присутствуют у других альвеолят. По нашему мнению, как нам кажется, логически развивающему мнению Лойдла (Loidl, 2016), можно предполагать, что у предков современных *Ciliata* существовала тенденция к формированию СК и, возможно, существовала серия форм одноклеточных организмов с незаконченным процессом эволюционного становления мейоза, который мы теперь называем каноническим.

**Эволюция кроссинговера.** У тетрахимены единственный когезиновый комплекс выполняет функции в митозе и мейозе (Howard-Till et al., 2013). Подобно этому, у диатомовых водорослей тоже, видимо, имеется только одна версия когезина (Patil et al., 2015). У тетрахимены не обнаружены гомологи Sun1, белков с KASH-доменом, и другие консервативные белки, служащие в мейозе современных организмов для формирования букета хромосом в профазе мейоза (см. Loidl, 2016).

У *Tetrahymena* процесс кроссинговера зависит от белков кроссинговера II класса Mus81 и Mms4 (см. гл. 4), но два белка ZMM-комплекса, Msh4 и Msh5, необходимы для уровня кроссинговера дикого типа. Таким образом, *Tetrahymena*, видимо, использует модифицированный путь кроссинговера II класса, который интегрировал некоторые элементы пути I класса (см. Loidl, 2016). Однако ещё неизвестно, есть ли у тетрахимены интерференция кроссинговера.

Динофлагелляты (Dinoflagellata) — это большая, разнообразная группа внутри альвеолят. Однако, хотя половое размножение с зиготическим мейозом обычно для них, очень мало известно о поведении мейотических хромосом, под вопросом и присутствие СК (Tillmann, Hoppenrath, 2013, цит. по Loidl, 2016).

СК были обнаружены у членов всех главных линий Stramenopiles (Heterokonta). Однако для диатомовых сведения противоречивы. Хотя СК обнаружены в электронно-микроскопических срезах *Lithodesmium* (Manton et al., 1969), но детальный биоинформатический анализ не выявил гены, кодирующие белки СК, у шести видов перистых диатомовых (самых древних), размножающихся половым путём (Patil et al., 2015). Не обнаружен также ген *DMC1*, что наводит на мысль о том, что вездесущий паралог Rad51 полностью замещает мейоз-специфичный Dmc1 в этой группе, как у дрозофилы, нематоды и аскомицета *Sordaria*.

Некоторые ризарии размножаются половым путём, и геномное секвенирование выявило мейотические гены у фораминиферы *Reticulomyxa filosa* (Glöckner et al., 2014), в том числе мейоз-специфичные гены *SPO11*, *HOP2*, *DMC1* и *HOP1*. Это может указывать на присутствие осевых элементов мейотических хромосом.

**Мейоз у Amoebozoa.** Амёбы теперь включают Archamoebae (ранее рассматривавшиеся как более ранняя ветвь) и Mycetozoa — слизевиков (slime molds). Экспрессия ряда мейотических генов (включая мейоз-специфичные *SPO11* и *DMC1*) и гомологичная рекомбинация во время питательного стресса и инцистирования у патогенной архамёбы *Entamoeba histolytica* указывают на существование мейоза (Kelso et al., 2015, цит. по Loidl, 2016; Singh et al., 2013). Также есть генетические доказательства существования мейоза у слизевика *Dictyostelium mucuroides* (Macinnes, Francis, 1974) и других социальных амёб. Кроме этих фактов, о мейозе у амёб мало известно. Однако у некоторых видов Mycetozoa наблюдали признаки мейоза в созревающих спорах (мейоз идёт на этой стадии) (Aldrich, Mims, 1970; Lie, Laane, 1982).

Другим подходом к решению проблем эволюции мейоза является биоинформатический анализ. Масштабный биоинформатический поиск белков, родственных основным белкам синаптонемного комплекса семи модельных видов эукариот, дал неожиданные результаты (подробности см. в гл. 15). Так, не были обнаружены белки, схожие с белками СК, у многих водорослей (Rhodophyta, Euglenophyta, Dinoflagellata, диатомовых и других), у ризарий и амёб, у кольчатых червей (Annelida) и хрящевых рыб (Chondrichthyes). Эти данные могут свидетельствовать либо о протекании мейоза без формирования СК, либо о формировании СК из неизвестных пока белков (Гришаева, Богданов, 2013; Grishaeva, Bogdanov, 2014).

Хотя СК не является необходимым условием мейоза, его широкое распространение наводит на мысль, что он был интегральным компонентом древнего мейоза или ранним добавлением к мейотической машине. Его отсутствие у *S. pombe* и тетрахимены явно является следствием эволюционной примитивности этих организмов.

Чрезвычайно осторожный и скептический исследователь Лойдл (Loidl, 2016) тоже допускает, что сохранение в природе современных организмов, не имеющих СК в мейозе, может быть следствием изначального отсутствия СК у их предков. Наилучших кандидатов для этого надо искать среди Excavata, потому что доказательства СК у этой группы противоречивы (см. Loidl, 2016, Table 1).

## Реликтовые механизмы мейоза

Гомология крупных признаков мейоза в разных таксонах эукариот очевидна (см. гл. 3 и 4). Эта гомология поистине удивительна. Удивительны и широко известные исключения из канонической схемы мейоза, которые следует обсудить.

**Исключение 1.** У некоторых низших Protozoa имеет место одноступенчатый мейоз, т.е. мейоз, состоящий из одного клеточного деления (Райков, 1978; Raikov, 1995). Возможно, что при таком мейозе кинетохор в начале анафазы не расщеплен, но в ходе анафазы он расщепляется, и тогда идет каскадный процесс разъединения сначала гомологов, а затем, по ходу продолжающейся работы веретена деления, — сестринских хроматид каждого гомолога (или наоборот, это уже не важно).

**Исключение 2.** Это мейоз без СК у грибов *S. pombe* и *A. nidulans*. В профазе I мейоза у *S. pombe* формируются белковые линейные элементы хромосом, аналогичные осевым элементам хромосом, которые образуются в профазе I мейоза у организмов, имеющих СК (например, у *S. cerevisiae*). Однако эти линейные элементы не превращаются в латеральные элементы СК. Это означает, что у *S. pombe* нет белка, аналогичного белку Zip1, который мог бы сформировать застежку «молнию» между линейными элементами хромосом. Сближение и выравнивание (alignment) всех хромосом внутри профазного ядра, в том числе гомологичных, у *S. pombe* осуществляется в результате формирования хромосомами конфигурации, именуемой фигурой «конского хвоста». Это пучок волокон, к которым прикреплены хромосомы. Медленные волнообразные (ундулирующие) движения «конского хвоста» во время профазы I вынуждают длинные, мало конденсированные хромосомы соприкасаться между собой, и в это короткое время происходят контакты-спаривания гомологичных хромосом. Этот принцип спаривания и последующего расхождения гомологов формально более выгоден, чем способ «touch-and-go» (игры в салочки) в мейозе у самцов дрозофилы (см. ниже), ибо при контактах хромосом внутри «конского хвоста» происходят ранние события рекомбинации. Рекомбинационные узелки у *S. pombe* есть, но они не фиксированы внутри СК (которого нет), а располагаются на осевых, линейных элементах хромосом без ограничения в расстояниях между ними. Поэтому у этого вида дрожжей нет интерференции кроссинговера, и он происходит чаще на единицу длины генетической карты, чем у *S. cerevisiae*.

**Исключение 3.** Это мейоз у самцов дрозофилы (и некоторых других Diptera) и некоторых жуков (Coleoptera). При этом типе мейоза редукция числа хромосом происходит без СК, без кроссинговера и хиазм. Вместо хиазм гомологичные хромосомы в метафазе I мейоза у самцов на короткое время соединяются в нескольких сайтах — коллохорах (Cooper, 1955). В этом случае на первый взгляд наиболее удивительно то, что у самцов и самок одного вида функционируют разные механизмы мей-

оза (мейоз у самок происходит с участием СК). Генетический контроль этих механизмов описан нами в специальных публикациях (Grishaeva, Bogdanov, 1988; Богданов и др. 1996; Гришаева, Богданов, 2000). Вкратце он состоит в том, что по несчастливой для дрозофил случайности некоторые гены, ответственные за формирование СК, оказались локализованными в X-хромосоме. Самцы дрозофилы имеют половые хромосомы XY и даже X0 (в отличие от человека). В любом случае они имеют вдвое меньшую дозу ключевого гена (генов) СК, локализованного в X-хромосоме. Судя по результатам многих экспериментов разных коллективов авторов, именно доза этих генов определяет возможность формирования СК (см. Grishaeva, Bogdanov, 1988; Гришаева, Богданов, 2000). Более того, в этих исследованиях выявлен определенный сегмент X-хромосомы, делеция или дупликация которого приводят к изменению пола дрозофилы и потере или восстановлению способности осуществлять кроссинговер и формировать СК. Иными словами, отношение числа сегментов X-хромосомы, несущих ключевой ген, к числу гаплоидных наборов аутосом («баланс генов») определяет не только пол дрозофилы, но и присутствие или отсутствие кроссинговера и СК (Grishaeva, Bogdanov, 1988; Гришаева, Богданов, 2000). В результате самцам «пришлось» воспользоваться более древним механизмом редукции числа хромосом в мейозе: механизмом «touch-and-go», частично (краткие контакты для построения в метафазе I) похожим на метафазу I *S. pombe*, но без кроссинговера. Значит, эволюция (по крайней мере, у мух) не привела к потере архаичной программы мейоза. У самок дрозофилы эта древняя программа остается невостребованной, а у самцов она пригодилась для мейотической редукции числа хромосом при отсутствии достаточной дозы генов для кроссинговера и хиазм и для формирования СК.

**Исключение 4.** У многих организмов существует ахиазматическая сегрегация хромосом. У них наблюдаются различные способы преимущественного распределения половых хромосом. В литературе существует подразделение их на две основных категории. Одна из них включает наследственно закрепленные половые униваленты (см., например, гл. 5), другая включает псевдобиваленты и псевдомультиваленты (см., например, Nokkala et al., 2006), Классификация некоторых случаев приводится в монографии Бернарда Джона (John, 1990).

**Исключение 5.** Особого рассмотрения требует мейоз у широко распространенной категории животных и растений с холоцентрическими хромосомами. Вопрос о присутствии или отсутствии у них хиазм и других способов удержания гомологов на экваторе веретена в метафазе I рассматривается в гл. 13.

Как видно из перечня организмов, у которых существуют способы временного спаривания хромосом с рекомбинацией, но без СК (*A. nidulans*, *S. pombe*) или вообще ахиазматического спаривания хромосом «touch-and-go» (самцы *D. melanogaster* и, вероятно, других мух), этот способ более или менее распространен в природе и, возможно, унаследован от древних одноклеточных эукариотических организмов, имевших такой механизм расхождения гомологов. Не исключено, что некоторые из этих механизмов сложились в ходе эволюции как альтернатива классической схеме мейоза. В любом случае такие примеры являются исключениями из классической схемы мейоза, не повлиявшими на закрепление классической (канонической) формы редукционного деления хромосом — гаплоидизации хромосомных наборов в половом размножении эукариот в ходе их прогрессивной эволюции.

Пример разнополых механизмов мейоза у дрозофилы косвенно подтверждает справедливость сказанного выше по поводу биологической роли кроссинговера. Потеряв половину возможностей для кроссинговера, а именно, не имея кроссинговера у самцов, дрозофилиды не стали эволюционировать медленнее, чем другие эукариоты; напротив, их эволюция идет высокими темпами (см. Воронцов, 1999). Важно, что мейоз у них сохранился, несмотря на то, что одному из полов пришлось использовать архаичный механизм редукции числа хромосом, сохранившийся в недрах генома.

Способность генома хранить обходные пути управления жизненно важными клеточными процессами иллюстрируется и другими примерами, связанными с мейозом. Например, у мутантов дрожжей *S. cerevisiae* существует несколько обходных метаболических путей (by-pass) для сохранения рекомбинации, если те или иные ферменты рекомбинации не могут быть использованы из-за мутаций в их генах (мини-обзор: Богданов, 2000).

Таким образом, комплекс признаков, характерный для классического мейоза, складывался в ходе эволюции постепенно. Он сложился уже в эпоху развития на Земле одноклеточных эукариот, подобных современным высшим Protozoa и грибам, таким, как одноклеточные *S. cerevisiae*, мицелиальные *Sordaria macrospore*, и другим.

**Возникновение набора новых для древних одноклеточных организмов признаков — формирования синаптонемных комплексов и классических хиазм, нерасщепления кинетохоров — и использование этих признаков (свойств) в половом процессе привели к становлению древних эукариот. Эти изменения в цитологических механизмах мейоза возникли путем многоэтапных мутационных изменений клеточных структур и привели к новой прогрессивной адаптации диплоидных одноклеточных организмов, которая сочетала дозированную изменчивость с относительным (достаточным) консерватизмом генома и достаточной устойчивостью фенотипа. Гаплоидизирующее клеточное деление стало классическим мейозом благодаря хиазмам, синаптонемному комплексу и нерасщеплению центромеры в первом из двух его делений.**

Следует сделать важную оговорку. Применение к внутриклеточным структурам терминов «ароморфоз» и других, заимствованных из сравнительной морфологии многоклеточных животных (Северцов, 1967), может показаться весьма произвольным. Мы рискнули сделать такой шаг не столько для утверждения собственных предположений, сколько с целью стимуляции дискуссии. Эволюция одноклеточных организмов важна для общей теории эволюции, и ее описание нуждается в стандартных терминах. При этом целесообразно не вводить новые, а использовать уже имеющиеся термины. Термины «ароморфоз», «идиоадаптация», «ценогенез» введены А.Н. Северцовым (1967) для обозначения морфофизиологических изменений, ведущих к прогрессивной эволюции. Северцов рассматривал такие приобретения, в том числе, и для оценки изменения структуры клеток, например, клеток гладкой мускулатуры, в ряду червей-рептилий-млекопитающих. Констатируя прогрессивные **цитологические (внутриклеточные)** изменения в этом ряду, он использовал термин «ароморфоз». Таким образом, наши сравнения не нарушают смысла, вложенного в эти термины их автором, Северцовым.

В связи с этим различия мейоза у самок и самцов дрозофилы подходят под определение идиоадаптации, т.е. процесса приспособления представителей определен-

ного таксона к условиям существования, а в данном случае — к условиям генотипической среды организма (см. выше о локализации генов СК в X-хромосоме). Как и в примерах идиоадаптаций, разбираемых Северцовым, у самцов дрозофилид произошла реверсия к спариванию хромосом по архаичному типу touch-and-go, и это сыграло роль прогрессивной адаптации, то есть идиоадаптации этих насекомых.

## Заключение

1. Мейоз присутствовал у последнего общего предшественника эукариот.
2. Синаптонемный комплекс, скорее всего, не является составляющей изначального мейоза, а более поздним приобретением, возникшим на основе белковых хромосомных осей — линейных элементов.
3. Многочисленные модификации и адаптации мейотического процесса происходили в разных эволюционных линиях.
4. Данные о механизмах мейоза немодельных организмов скудны. Больше разнообразия можно найти в обширном и плохо изученном царстве простейших, но более старые сообщения о странных мейотических процессах должны быть переисследованы с помощью современных методов.

## Общее заключение

Мейоз всегда рассматривается в сравнении с митозом — более простым типом клеточного деления. Широко распространено представление о том, что в ходе эволюции эукариот мейоз возник на основе митоза или параллельно с ним. Для этого есть основания, ибо в обоих случаях используется одинаковый кинетический аппарат разделения хромосом и хроматид между полюсами деления — белковое веретено деления, клеточные центры формирования веретена и кинетохоры хромосом. Различие существует в защите кинетохоров хроматид от разъединения в первом делении мейоза, благодаря специфичным для мейоза защитным белкам кинетохоров — шугошинам. В редукционном делении мейоза они защищают от гидролиза белков и не позволяют кинетохорам и центромерам сестринских хроматид разъединиться (гл. 3 и 16).

Цитологическая картина клеток, делящихся путем мейоза, различается у протистов, растений, грибов и животных. Однако содержание главных процессов, происходящих с хромосомами в ходе мейоза, и результаты мейоза во всех случаях одинаковы. Это происходит потому, что у всех эукариот реализуется консервативный алгоритм событий, происходящих с хромосомами, и существует одинаковая материальная основа этих событий. В разных филогенетических линиях эукариот **центральным событием** мейоза является спаривание гомологичных хромосом, которое закрепляется кроссинговером (на молекулярном уровне) и механическими хиазмами (на микроскопическом уровне). В результате этих событий хромосомы вынуждены выстраиваться в виде бивалентов на экваторе клеточного деления, и это позволяет центромерам гомологичных хромосом разойтись к разным полюсам. Этот неперемный (консервативный) механизм приводит к редукции числа хромосом в разделившихся клетках.

Консервативный молекулярный механизм мейоза состоит из последовательно, генетически запрограммированного действия набора белков — ферментов и медиаторов рекомбинации. Набор содержит мейоз-специфические белки рекомбинации и белки общей рекомбинации и сложился в ходе эволюции в результате наследования «стержневого» комплекса этих белков, имевшего предшественников у прокариот. Эволюционно мейоз возник и сложился на основе стержневого комплекса белков и стал основой полового процесса эукариот. В стержневой комплекс входят белки модельных организмов, гомологичные белкам рекомбинации почкующихся дрожжей *S. cerevisiae*, а именно, Spo11, Mre11, Sae2, Sgs1, Rad 50, Rad 51, Rad 52, Rad 54, Dmc1, Mer3, Msh4, Msh5, Mus8, Mlh1. Это неполный список.

Белковый комплекс Mus81-Mms4 обеспечивает 100% кроссинговера у *S. pombe* и, вероятно, у других одноклеточных эукариот, у которых кроссинговер проходит без интерференции. Однако у многоклеточных эукариот белки Mus81-Mms4 обеспечивают не более 20% случаев кроссинговера. Такие кроссоверы также возникают без интерференции. Такой кроссинговер получил название кроссинговера II класса. Кроссинговером I класса принято обозначать тот, который идет с интерференцией. Кроссинговер I класса обеспечивается консервативным комплексом белков, обозначаемых как ZMM-комплекс (гл. 4).

Интерференция кроссинговера обеспечивает неслучайное распределение кроссоверов вдоль хромосомы и их расположение на более далёком расстоянии один от другого, чем это ожидается при случайном распределении, если кроссоверов больше одного на пару гомологов. Кроме этого существует кроссоверный гомеостаз — это способность мейотических клеток сохранять присущий данному биологическому виду (и генетической линии или штамму организмов) уровень числа кроссоверов на хромосому, даже если число первичных явлений рекомбинации (двунитевых разрывов ДНК) по какой либо причине снижается на порядок величин. Кроссоверный гомеостаз — страховка мейоза и страховка генома, ибо он обеспечивает каждую пару хромосом хотя бы одним кроссовером, необходимым для редукционной сегрегации гомологичных хромосом.

Белки, обслуживающие рекомбинацию в профазе первого деления мейоза (в частности, Mus81-Mms4), локализуются на белковых хромосомных осях. Эти оси — продукт экспрессии специфических генов мейоза — появляются в хромосомах во время ранней профазы I мейоза. У *S. pombe* и многих других одноклеточных эукариот хромосомные оси (именуемые иногда «линейными элементами» хромосом) сохраняются на протяжении всей профазы I мейоза. У многоклеточных эукариот (и у некоторых одноклеточных, типа *S. cerevisiae*) оси гомологичных хромосом в ходе профазы I мейоза соединяются попарно и формируют синаптонемные комплексы. На синаптонемных комплексах, точнее в недрах этих структур, поперечник (сечение) которых составляет от 100 до 200 нм у разных организмов, локализуются белки рекомбинации I класса, то есть белки ZMM-комплекса. Хромосомные оси и синаптонемные комплексы — это внутриклеточные морфозы высшего порядка, возникшие в ходе эволюции процесса рекомбинации, в ходе формирования современного мейоза эукариот.

В отличие от, по-видимому, консервативного ZMM-комплекса, располагающегося в центральном пространстве синаптонемных комплексов, структурные белки латеральных элементов СК — неконсервативны. Эти белки, так же как белки осевых (линейных) элементов одноклеточных, не имеющих СК, не имеют между собой гомологии в разных филогенетических линиях эукариот, за исключением того, что некоторые из них несут консервативный домен NORMA. Этот домен позволяет таким белкам ассоциировать с ДНК и строить волокнистые структуры вдоль хромосомы — осевые элементы хромосом и латеральные элементы СК. В целом, белки СК вариабельны и строят схематически одинаковые синаптонемные комплексы из полипептидных блоков с аналогичной вторичной и третичной структурой.

Таким образом, мейоз сформировался в ходе эволюции эукариот как сложная комбинация консервативных и изменчивых внутриклеточных структур и процессов, белков и их функций. Консерватизм структуры белков (высокая гомология первичной структуры — последовательности аминокислотных остатков в белках) наблюдается в тех случаях, когда суть процесса требует высокой точности в пространственном диапазоне долей нанометров (узнавание нуклеотидов, аминокислот и их функциональных групп). Изменчивость допускается в построении внутриклеточных структур в нанометровом диапазоне трехмерного пространства, то есть при построении латеральных элементов СК и деталей центрального пространства СК.

Неканонический мейоз у *S. pombe* рассматривается нами как пример примитивного

мейоза, однако основанного на том же алгоритме событий, что и канонический мейоз, и на аналогичной материальной базе белков. Мы имеем право рассматривать дрожжи *S. pombe* как организм более примитивный, чем почкующиеся дрожжи *S. cerevisiae*, по крайней мере в отношении мейоза, на том основании, что *S. pombe* не имеют синаптонемных комплексов — более эволюционно поздних и совершенных структур, чем линейные элементы хромосом, позволяющих тонко регулировать кроссинговер.

Описанные в этой книге примеры неканонического мейоза у дрозофилы и тутового шелкопряда, у гетерогаметного пола которых отсутствуют кроссинговер и хиазмы, имеют хорошее объяснение. Неспособность формировать СК (у самцов дрозофилы) или уродливая модификация СК (у самок шелкопряда) объясняются тем, что в том и другом случаях у гетерогаметного пола не хватает дозы генов, контролирующей морфогенез СК. Супрессия формирования СК приводит к потере кроссинговера, нуждающегося в белках ZMM-комплекса, которых нет, когда нет центрального пространства СК. Для *D. melanogaster*, самцы которых имеют только одну X-хромосому, факт зависимости формирования СК от дозы генов X-хромосомы доказан (гл. 11). Для шелкопряда по аналогии предполагается зависимость кроссинговера от дозы генов Z-хромосомы. Эта хромосома у самок шелкопряда присутствует только в одной копии, и в мейозе у них не хватает главной фазы функционирования СК: центральное пространство СК заполняется гомогенным материалом, который исключает возможность присутствия в нем тонко структурированного ZMM-комплекса.

Как было показано в главе 13, инвертированный мейоз (расхождение сестринских хроматид в мейозе I, а несестринских — в мейозе II) у некоторых растений и насекомых объясняется тем, что холокинетические кинетохоры их хромосом покрывают 70–90% длины хромосом, оставляя для хиазм лишь прителомерные районы хромосом. Эти гигантские кинетохоры, вероятно, не защищены в метафазе I от гидролиза белков, и все это позволяет разъединять центромеры сестринских хроматид в мейозе I. Молекулярный механизм кроссинговера у растений из рода *Luzula* функционирует так же, как у растений и животных с каноническим мейозом.

Таким образом, важные исключения из генеральной схемы канонического мейоза объясняются на основе правил этой же схемы, как её закономерные варианты.

Для понимания полной картины молекулярных процессов мейоза важное значение будут иметь сравнительные исследования молекулярной биологии и генетики мейоза у низших эукариот. Такие исследования по крупнякам приносят информацию о предполагаемых путях возникновения и эволюции мейоза.

## Перспективы

Можно прогнозировать, что в ближайшее время усилия исследователей будут посвящены решению нескольких узловых задач и проблем.

Важная задача — поиск новых модельных объектов для исследования мейоза из числа одноклеточных и примитивных многоклеточных эукариот. Движущим стимулом будет желание найти архаичные (филогенетически ранние или вторично упрощенные) формы мейоза. Искомые модельные организмы должны быть пригодны для геномного, проте-

омного и иммуноцитохимического анализа. Обнадеживающим примером на пути поиска таких форм служит исследование мейоза у патогенной амебы (глава 17).

Изучение проблемы инициации мейоза до сих пор распадалось на поиск генетических механизмов в жизненных циклах растений, грибов, протистов и животных, но нуждается в теоретическом обобщении.

Одна из узловых проблем механизмов мейоза — ремоделирование хромосом на основе мейоз-специфичных белковых осей и модификации хроматина. Исследования нуждаются в продолжении.

Существенна проблема генного контроля и молекулярного механизма контакта теломер хромосом с ядерной мембраной — проблема формирования хромосомного «букета». Кластрирование теломер на ядерной мембране — важный вспомогательный механизм синапсиса хромосом. Данные в этой области получены, в основном, на *S. pombe* и *C. elegans*, и их нет для мейоза у растений.

Продолжаются исследования механизмов кроссоверной и некроссоверной репарации массовых двунитевых разрывов ДНК в профазе I мейоза. Интерференция кроссинговера может оказаться частным случаем (а может быть, и нет) этого явления. В любом случае проблема интерференции рассматривается как самостоятельная и серьезная проблема мейоза.

Загадка «нерасщепления» центромер сестринских хроматид в мейозе I только начала решаться на примере общих признаков мейоз-специфичных шугошинов у позвоночных животных (гл. 16) и требует решения для беспозвоночных животных, грибов и растений.

В этой книге мы рассматривали мейоз только в плане его центральных событий — рекомбинации хромосом и редукции их числа (гаплоидизации), но существуют изменения цитоплазматических структур (обновление цитоплазматических органелл) накануне и во время мейоза. Перепрограммирование клеток с митоза на мейоз затрагивает всю клеточную структуру. Исследования в этой области — отдельная серьезная и увлекательная задача. Это одна из задач проблемы клеточной дифференцировки как основы онтогенеза.

## Список литературы

- Айзенштадт Т.Б. 1984. Цитология оогенеза. М.: Наука. 247 с.
- Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж. и др. 1986. Молекулярная биология клетки. М.: Мир. Т. 1. 223 с.
- Арсеньева М.А., Дубинин Н.П., Орлова Н.Н., Бакулина Э.Д. 1961. Радиационный анализ продолжительности фаз мейоза в сперматогенезе обезьяны *Macaca mulatta*. – Доклады АН СССР. Т. 141. С. 1486–1489.
- Астауров Б.Л. 1940. Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда (Экспериментальное исследование). М., Л.: АН СССР. 240 с.
- Астауров Б.Л. 1977. Партеногенез, андрогенез и полиплоидия. М.: Наука. 343 с.
- Астауров Б.Л., Верейская В.Н. 1960. Получение искусственного партеногенеза у триплоидных межвидовых гибридов шелковичного червя. – Доклады Академии наук СССР. Т. 131. № 6. С. 1426–1429.
- Баталова Ф.М., Боголюбов Д.С. 2013. Капсула кариосферы ооцитов *Tribolium castaneum*. – Цитология. Т. 55. № 11. С. 798–808.
- Боброва И.Ф., Грузова М.Н. 1967. Морфологическое и цитохимическое исследование ядер ооцитов пилильщика в связи с вопросом о кариосфере. – Цитология. Т. 9. С. 27–33.
- Богданов Ю.Ф. 1971. Гомологичная конъюгация хромосом. – Успехи совр. генетики. Вып. 3. С. 134–161.
- Богданов Ю.Ф. 1971. Синаптонемный комплекс. – Цитология. Т. 13. № 6. С. 760–767.
- Богданов Ю.Ф. 1975. Ультраструктура хромосом в мейозе и синаптонемный комплекс. – В.В. Хвостова, Ю.Ф. Богданов (ред.). Цитология и генетика мейоза. М.: Наука. С. 58–95.
- Богданов Ю.Ф. 1978. Необычно раннее формирование поликомплексов, подобных синаптонемным, в мейозе у самцов аскариды. – Цитология. Т. 20. С. 460–463.
- Богданов Ю.Ф. 1983. Ультраструктура хромосом и синаптонемного комплекса в профазе мейоза у лилии. – Цитология. Т. 25. С. 17–24.
- Богданов Ю.Ф. 1989. Проблемы мейоза. – А.В. Яблоков (ред.). Онтогенез, эволюция, биосфера. М.: Наука. С. 45–59.
- Богданов Ю.Ф. 2000. Молекулярная концепция мейоза выдерживает испытание. Итоги Четвертой Европейской конференции по мейозу. – Генетика. Т. 36. С. 585–590.
- Богданов Ю.Ф. 2003. Изменчивость и эволюция мейоза. – Генетика. Т. 39. № 4. С. 453–473.
- Богданов Ю.Ф. 2004. Сходство доменной организации белков у филогенетически далеких организмов как основа консерватизма мейоза. – Онтогенез. Т. 35. № 6. С. 415–423.
- Богданов Ю.Ф. 2008. Эволюция мейоза одноклеточных и многоклеточных эукариот. Ароморфоз на клеточном уровне. – Журн. общей биологии. Т. 69. № 2. С. 102–117.
- Богданов Ю.Ф. 2014. Талантливый исследователь генетического контроля мейоза. К 75-летию И.Н. Голубовской. – Вавиловский журнал генетики и селекции. Т. 18. № 2. С. 228–234.
- Богданов Ю.Ф. 2016а. Инвертированный мейоз и его место в эволюции путей полового размножения. – Генетика. Т. 52. № 5. С. 541–560.
- Богданов Ю.Ф. 2016б. Консерватизм и эволюция мейоза. Молекулярные основы. Saarbrücken: Lambert Academic Publishing. 95 с.
- Богданов Ю.Ф. 2017. Неканонический мейоз у нематоды *Caenorhabditis elegans* как модель для изучения молекулярных основ синапсиса, кроссинговера и сегрегации гомологичных хромосом. – Генетика. Т. 53. № 12. С. 1363–1379.

- Богданов Ю.Ф., Гришаева Т.М., Коломиец О.Л., Федотова Ю.С. 1996. Цитогенетические закономерности синапсиса хромосом в мейозе у животных и растений. – Генетика. Т. 32. № 11. С. 1474–1493.
- Богданов Ю.Ф., Дадашев С.Я., Гришаева Т.М. 2002а. Ген *CG17604 Drosophila melanogaster* – возможный функциональный гомолог генов *ZIP1* дрожжей и *SCP1 (SYCP1)* млекопитающих, кодирующих белки синаптонемного комплекса. – Генетика Т. 38. № 1. С. 108–112.
- Богданов Ю.Ф., Дадашев С.Я., Гришаева Т.М. 2002б. Сравнительная геномика и протеомика дрозофилы, нематоды Бреннера и арабидопсиса. Идентификация функционально сходных генов синапсиса мейотических хромосом. – Генетика. Т. 38. С. 1078–1089.
- Богданов Ю.Ф., Коломиец О.Л. 2007. Синаптонемный комплекс – индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом. М.: Т-во научных изданий КМК. 358 с.
- Богданов Ю.Ф., Спангенберг В.Е., Дадашев С.Я. и др. 2012. Морфологическое проявление в профазе I мейоза человека уникального сегмента ДНК. – Цитология. Т. 54. № 8. С. 603–608.
- Богданов Ю.Ф., Федотова Ю.С., Соснихина С.П., Смирнов В.Г., Дадашев С.Я., де Йонг Я.Х. 1997. Новый тип аномалий мейоза – перегородки в синаптонемных комплексах у растений инбредной линии Ms6 ржи *Secale cereale* L. – Генетика. Т. 33. № 9. С. 1236–1243.
- Боголюбов Д.С. 2018. Кариосфера. – Цитология. Т. 60. № 3. С. 147–163.
- Бородин П.М., Горлов И.П., Ладыгина Т.Ю. 1990. Синапсис у одиночных и двойных гетерозигот по частично перекрывающимся инверсиям в первой хромосоме доменной мыши. – Генетика. Т. 26. С. 1279–1288.
- Босток К., Самнер Э. 1981. Хромосома эукариотической клетки. М.: Мир. 598 с.
- Вавилов Н.И. 1987. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. М.-Л.: Наука.
- Верейская В.Н., Астауров Б.Л. 1962. Доказательство возможности преодоления мужского бесплодия тетраплоидов шелковичного червя посредством получения амфидиплоидов ( $2n Bombyx mori + 2n Bombyx mandarina$ ). – Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. Т. 67. № 3. С. 45–55.
- Воронцов Н.Н. 1999. Развитие эволюционных идей в биологии. М.: Прогресс-Традиция. 639 с.
- Высоцкая Л.В., Агапова О.А., Олимова Д.Ч. 1995. Распределение хтазм и синапсис хромосом у видов саранчовых подсемейства Oedipodinae. – Генетика. Т. 31. С. 471–476.
- Гагинская Е.Р. 1972. Ядерные структуры в оогенезе половозрелых птиц. II. Белковые тела и кариосфера. – Цитология. Т. 14. С. 568–577.
- Галкина С.А. 2002. Сравнительный анализ митотических хромосом и хромосом-ламповых щёток с использованием методов дифференциального окрашивания. – Диссертация на соискании учёной степени к.б.н. СПб.: СПбГУ. 178 с.
- Голубовская И.Н., Гребенникова З.К., Авалкина Н.А. 1992. Новый аллель мей-гена *ameiotic 1 (am1)* у кукурузы и проблема генного контроля инициации мейоза у высших растений. – Генетика. Т. 28. № 3. С. 137–146.
- Голубцов С.В., Соснихина С.П., Иорданская И.В. и др. 2010. Полустерильный мейотический мутант *sy11* ржи *Secale cereale* L. с гетерологичным синапсисом хромосом. – Генетика. Т. 46. № 6. С. 774–781.
- Гришаева Т.М. 2011. Соматические и мейотические формы когезиновых белков: сходство или различие? – Расширенный доклад на конференции on-line «ИВТН-2011» ([http://www.ivtn.ru/2011/pdf/d11\\_02.pdf](http://www.ivtn.ru/2011/pdf/d11_02.pdf)).
- Гришаева Т.М. 2012. Сравнение *in silico* соматической и мейотической форм когезинового белка SMC1 позвоночных животных. – Сборник трудов Международной научной on-line конференции «Математическое и компьютерное моделирование в биологии и химии. Перспективы развития» (Казань, 28–30 мая 2012 г.). Казань: Казанск. ун-т. С. 51–53.

- Гришаева Т.М., Богданов Ю.Ф. 1986. Поиск района X-хромосомы дрозофилы, контролирующего формирование синаптонемного комплекса. – Генетика. Т. 22. С. 343–345.
- Гришаева Т.М., Богданов Ю.Ф. 2000. Генетический контроль мейоза у дрозофилы. – Генетика. Т. 36. С. 1301–1321.
- Гришаева Т.М., Дадашев С.Я., Богданов Ю.Ф. 2004. Компьютерный поиск и анализ белков синаптонемного комплекса у нематоды *Caenorhabditis elegans*. – Биомедицинская химия. Т. 50. Прил. 1. С. 3–10.
- Гришаева Т.М., Дадашев С.Я., Богданов Ю.Ф. 2005. Идентификация и характеристика *in silico* последовательностей мейотической ДНК. Разработка и апробация метода. – Генетика. Т. 41. С. 697–701.
- Гришаева Т.М., Дадашев С.Я., Богданов Ю.Ф. 2007. Мейотические когезины Rec8 и их митотические ортологи Rad21: сравнение *in silico*. – Молекулярная биология. Т. 41. № 4. С. 743–745.
- Гришаева Т.М., Дадашев С.Я., Богданов Ю.Ф. 2008. Структурные особенности мейотических когезинов STAG3 в сравнении с их митотическими паралогами SCC3/STAG1. – Расширенный доклад на конференции on-line «ИВТН-2008» ([http://www.ivtn.ru/2008/pdf/d08\\_10.pdf](http://www.ivtn.ru/2008/pdf/d08_10.pdf))
- Гришаева Т.М., Дадашев С.Я., Богданов Ю.Ф. 2010. Анализ *in silico* структурной основы функциональных различий соматических и мейотических форм когезинов SCC3/SA/STAG. – Информационный вестник ВОГиС. Т. 14. № 1. С. 96–105.
- Гришаева Т.М., Спангенберг В.Е., Коломиец О.Л. и др. 2013. Особенности организации хромосом в мейозе. – Цитология. Т. 55. № 4. С. 275–278.
- Гришаева Т.М., Богданов Ю.Ф. 2013. О происхождении белков синаптонемного комплекса. Поиск родственных белков в протеомах водорослей, низших грибов, мхов и простейших животных. – Вавиловский журнал генетики и селекции. Т. 17. № 2. С. 335–342.
- Гришаева Т.М., Куличенко Д.А., Богданов Ю.Ф. 2015. Сравнительная консервативность разных групп шугошинов – протекторов когезии хроматид у эукариот. – Scientific Review. Proceedings of the international scientific conference. Czech Republic, Karlovy Vary-Russia, Moscow, 29–30 May 2015. Karlovy Vary: Skleněný Můstek – Kirov: MCNIP. С. 11–21.
- Гришаева Т.М., Богданов Ю.Ф. 2017. Эволюционный консерватизм белков рекомбинации и изменчивость мейоз-специфичных белков хромосом. – Генетика. Т. 53. № 5. С. 541–551.
- Гришаева Т.М., Богданов Ю.Ф. 2018. Особенности мейоза у дрозофилы: классический объект генетики имеет нестандартный мейоз. – Успехи современной биологии. Т. 138. № 1. С. 68–82.
- Груздев А.Д. 1975. Гипотезы о механизмах конъюгации хромосом. – В.В. Хвостова, Ю.Ф. Богданов (ред.). Цитология и генетика мейоза. М.: Наука. С. 184–192.
- Грузова М.Н. 1975. Некоторые аспекты мейоза в оогенезе. – В.В. Хвостова, Ю.Ф. Богданов (ред.). Цитология и генетика мейоза. М.: Наука. С. 113–137.
- Грузова М.Н. 1976. Кариосфера в оогенезе. – Цитология. Т. 17. С. 219–237.
- Дадашев С.Я., Гришаева Т.М., Богданов Ю.Ф. 2005. Идентификация и характеристика *in silico* последовательностей мейотической ДНК. *AluJb*, возможно, участвуют в прикреплении петель хроматина к синаптонемному комплексу. – Генетика. Т. 41. С. 1707–1713.
- Демин С.Ю., Бердиева М.А., Подлипаева Ю.И. и др. 2016. Кариотипирование *Amoeba proteus*. – Цитология. Т. 58. № 12. С. 971–976.
- Демин С.Ю., Подлипаева Ю.И., Гудков А.В., Бердиева М.А. 2017. Кариотип *Amoeba borokensis* из группы близкородственных видов «Proteus-подобных» амёб (Amoebozoa: Euamoebida). – Цитология. Т. 59. № 10. С. 718–723.
- Демин С.Ю., Бердиева М.А., Гудков А.В. 2018. Циклическая полиплоидия у облигатно агамных амёб. – Цитология. Т. 60. № 11. С. 935–938.
- Долматович Т.В., Малышев С.В., Соснихина С.П. и др. 2013а. Картирование мейотических генов ржи (*Secale cereale* L.): локализация мутации *sy18*, нарушающей гомологичность синапсиса, с использованием микросателлитных маркеров. – Генетика. Т. 49. № 4. С. 472–478.

- Долматович Т.В., Малышев С.В., Соснихина С.П. и др. 2013б. Картирование мейотических генов ржи (*Secale cereale* L.): локализация мутации *sy19*, нарушающей гомологичный синапсис, с помощью изозимных и микросателлитных маркеров. – Генетика. Т. 49. № 5. С. 595–601.
- Дондуа А.К. 2005. Биология развития. Т. 1: Начала сравнительной эмбриологии. СПб.: Изд-во СПбГУ. 295 с.
- Дэвидсон Э. 1972. Действие генов в раннем развитии. М.: Мир. 180 с.
- Захаров И.А., Дадашев С.Я., Гришаева Т.М.. 2010. Ортологи белков мейоза в протеомах прокариот. – Доклады Академии наук. Т. 435. № 5. С. 696–698.
- Ильичева Н.В., Кирюшина Д.Ю., Басаков А.В. и др. 2016. Капсула карисферы ооцитов зимующих лягушек *Rana temporaria* содержит актин, ламины и белки малых ядерных РНП. – Цитология Т. 58. С. 451–459.
- Камзолкина О.В., Дунаевский Я.Е. 2015. Биология грибной клетки. М.: Т-во научных изданий КМК. 239 с.
- Карпова О.И., Сафронов В.В., Зайцева С.П., Богданов Ю.Ф. 1989. Некоторые свойства ДНК из выделенной фракции синаптонемных комплексов мышей. – Молекулярная биология. Т. 23. № 2. С. 571–579.
- Карпова О.И., Пенкина М.В., Дадашев С.Я. и др. 1995. Особенности первичной структуры ДНК из синаптонемного комплекса золотистого хомячка. – Молекулярная биология. Т. 29. С. 512–521.
- Кикнадзе И.И. 1975. Функциональная морфология мейотических хромосом. – В.В. Хвостова, Ю.Ф. Богданов (ред.). Цитология и генетика мейоза. М.: Наука. С. 96–112.
- Коломиец О.Л., Абдуев Н.К., Мазурова Т.Ф. и др. 2001. Повреждающее действие антибиотиков на структуру синаптонемных комплексов мейотических хромосом мыши. – Генетика. Т. 37. № 2. С. 197–206.
- Коломиец О.Л., Федотова Ю.С., Богданов Ю.Ф. 2001. Естественная деградация синаптонемных комплексов на стадии диплотены мейоза позволяет анализировать организацию его ультраструктурных компонентов. – Биол. мембраны. Т. 18. С. 230–249.
- Кузнецова В.Г., Грозева С.М. 2010. Ахизматический мейоз: обзор. – Вестник ВОГиС. Т. 14. № 1. С. 79–88.
- Курило Л.Ф. 1980а. Динамика преобразования хромосом в профазе мейоза оогенеза человека. – Цитология. Т. 22. С. 154–160.
- Курило Л.Ф. 1980б. Развитие яичников человека в пренатальный период. – Архив анат. Т. 79. Вып. 7. С. 73–79.
- Курило Л.Ф. 1980в. Фоликулогенез в пренатальном периоде развития человека. – Архив анат. Т. 79. Вып.8. С. 63–69.
- Курило Л.Ф. 1985. Морфо-функциональные характеристики оогенеза млекопитающих и человека. – Диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук. М.: Ин-т биологии развития им. Н.К. Кольцова АН СССР. 470 с.
- Курило Л.Ф. 2012. Закономерности овариогенеза и оогенеза млекопитающих. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing. 282 с.
- Литвинова Е.М. 1977. Биология размножения дрозофилы. – Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. Новосибирск: Наука. С. 19–61.
- Ловцюс А.В., Долматович Т.В., Михайлова Е.И. и др. 2009. Получение двойных мутантов по синаптическим генам *sy1* и *sy9* у ржи и их изучение методами молекулярной цитогенетики. – Вестник СПбГУ. Т. 3. № 4. С. 47–56.
- Ляпунова Н.А., Зосимовская А.И. 1973. Авторадиографическое исследование длительности стадий сперматогенеза у сверчка. – Цитология. Т. 15. С. 276–382.
- Ляпунова Н.А., Богданов Ю.Ф. 1975. Физиология, цитохимия и биохимия мейоза. – В.В. Хвостова, Ю.Ф. Богданов (ред.). Цитология и генетика мейоз. М.: Наука. С. 138–183.

- Макаров В.Б., Сафронов В.В. 1974. Функциональная организация хромомера. РНК-синтез гигантской гранулярной петле хромосомы XII из ооцитов тритона в нормальных условиях и при последующем воздействии мутагенами. – Цитология. Т. 16. С. 327–329.
- Малышев С.В., Долматович Т.В., Войлоков А.В. и др. 2009. Молекулярно-генетическое картирование асинаптических генов *sy1* и *sy9* ржи (*Secale cereale* L.) с использованием микросателлитных и изозимных маркеров. – Генетика. Т. 45. № 12. С. 1634–1640.
- Марков А.В., Куликов А.М. 2005. Гомологичные белковые домены в надцарствах Archaea, Bacteria и Eukaryota и проблема происхождения эвкариот. – Известия РАН. Серия биологическая. № 4. С. 389–400.
- Матвеевский С.Н., Баклушинская И.Ю., Ляпунова Е.А., Коломиец О.Л. 2013. Мейотическая инактивация хроматина в сперматоцитах межвидовых гибридов слепушонок рода *Ellobius*. – Фактори експериментальної еволюції організмів. Т. 12. С. 149–152.
- Махлин Е.Е. 1993. Синтез избыточной ДНК в ядрах амёб *Amoeba proteus* в клеточном цикле. – Цитология. Т. 35. № 3. С. 109–121.
- Михайлова Е.И., Ловцюс А.В., Соснихина С.П. 2010. Некоторые особенности реализации ключевых событий мейоза у ржи и ее синаптических мутантов. – Генетика. Т. 46. № 10. С. 1371–1375.
- Михайлова Е.И., Толкачева А.В., Мальцева А.Л. и др. 2015. Поиск мейоз-специфичных белков у ржи *Secale cereale* L. и мутантов “Петергофской” генетической коллекции. – Материалы международной конференции “Хромосома 2015”, 24–28 августа 2015 г. Новосибирск.
- Монова М.А. 1973. Центромерное кольцо в половых клетках *Chorthippus biguttules*. – ДАН СССР. Т. 213. С. 205–208.
- Пенкина М.В., Карпова О.И., Дадашев С.Я. и др. 1999. Распределение повторов тетра nukлеотидов в семействе последовательностей ДНК, прочно ассоциированных с синаптонемным комплексом золотистого хомячка. – Молекулярная биология. Т. 33. № 4. С. 586–591.
- Пенкина М.В., Карпова О.И., Богданов Ю.Ф. 2002. Белки синаптонемного комплекса – специфические белки мейотических хромосом. – Молекулярная биология. Т. 36. № 3. С. 397–407.
- Пенкина М.В., Карпова О.И., Захаревич Н.В. и др. 2008. Семейство СКАР-ДНК обогащено эволюционно консервативными последовательностями. – Молекулярная биология. Т. 42. № 2. С. 362–369.
- Прокофьева-Бельговская А.А. 1975. Введение. – В.В. Хвостова, Ю.Ф. Богданов (ред.). Цитология и генетика мейоза. М.: Наука. С. 5–14.
- Прокофьева-Бельговская А.А. 1986. Гетерохроматические районы хромосом. М.: Наука. 432 с.
- Равен Х. 1964. Оогенез. Накопление морфогенетической информации. М.: Мир. 305 с.
- Райков И.Б. 1982. Новые данные о мейозе у простейших. – Ю.Ф. Богданов, С.Г. Васецкий (ред.). Генетика, биохимия и цитология мейоза. М.: Наука. С. 75–80.
- Райцина С.С. 1967. Цикл сперматогенного эпителия и кинетика сперматогенеза у млекопитающих. – Успехи современной биологии. Т. 63. № 1. С. 135–146.
- Расмуссен С.В., Хольм П.Б., 1981. Конъюгация хромосом и формирование синаптонемного комплекса. Молекулярные основы генетических процессов. – Труды международного генетического конгресса. Москва 21–30 августа 1978 г. М.: Наука. С. 439–451.
- Родионов А.В. 1996. Micro vs. Macro: структурно-функциональная организация микро- и макрохромосом птиц. – Генетика. Т. 32. № 5. С. 597–608.
- Родионов А.В., Мякошина Ю.А., Чельшева Л.А. и др. 1992а. Хиазмы на хромосомах-ламповых щётках *Gallus domesticus*: цитогенетическое исследование частоты рекомбинации и длины групп сцепления. – Генетика. Т. 28. № 4. С. 53–63.
- Родионов А.В., Чельшева Л.А., Соловей И.В., Мякошина Ю.А. 1992б. Распределение хиазм по хромосомам-ламповым щёткам курицы *Gallus gallus domesticus*: горячие точки реком-

- бинации и их возможное значение для правильного расхождения гомологичных хромосом в первом мейотическом делении. – Генетика. Т. 28. № 7. С. 151–160.
- Северцов А.Н. 1967. Главные направления эволюционного процесса. Морфобиологическая теория эволюции. Изд. 3-е. М.: Изд-во МГУ. 202 с.
- Семенов Е.П., Смирнов А.Ф. 1979. Соматическая конъюгация хромосом у *Drosophila melanogaster*. Сообщение I. Конъюгация эу- и гетерохроматиновых районов хромосом на различных стадиях клеточного цикла. – Генетика. Т. 15. С. 2156–2167.
- Серавин Д.Н., Гудков А.В. 1999. Агамные слияния протистов и происхождение полового процесса. СПб. – Омск: Биологический НИИ СПб университета, Омский гос. пед. ун-т. 155 с.
- Симановский С.А., Матвеевский С.Н., Иорданская И.В. и др. 2014. Спирализованные структуры латеральных элементов синаптонемных комплексов на стадии диплотены мейоза у ржи содержат белок ASY1. – Генетика. Т. 50. № 10. С. 1250–1254.
- Симановский С.А., Богданов Ю.Ф. 2018. Генетический контроль мейоза у растений. – Генетика. Т. 54. № 4. С.397–411.
- Сингер М., Берг П. 1998. Гены и геномы. Т. 1. М.: Мир. 373 с.
- Соснихина С.П., Федотова Ю.С., Смирнов В.Г. и др. 1994. Изучение генетического контроля мейоза у ржи. – Генетика. Т. 30. № 8. С. 1043–1056.
- Соснихина С.П., Михайлова Е.И., Тихолиз О.А. и др. 2005. Генетическая коллекция мейотических мутантов ржи *Secale cereale* L. – Генетика. Т. 41. № 10. С. 1310–1321.
- Соснихина С.П., Михайлова Е.И., Тихолиз О.А. и др. 2007. Проявление и наследование десинаптической формы ржи с нарушением гомологичности синапсиса. – Генетика. Т. 43. № 10. С. 1424–1433.
- Соснихина С.П., Михайлова Е.И., Цветкова Н.В. и др. 2009. Нарушение гомологичности синапсиса хромосом в мейозе у ржи *Secale cereale* L., вызываемое рецессивной мутацией гена *sy18*. – Генетика. Т. 45. С. 1565–1574.
- Строков, А. А. 2007. Структура хроматина в профазе I мейоза. – Генетика. Т. 43. № 11. С. 1468–1477.
- Федотова Ю.С., Коломиец О.Л., Гаджиева С.А. 1991. Электронно-микроскопический анализ тотальных препаратов синаптонемных комплексов растения ржи, гетерозиготного по парацентрической инверсии. – Цитология. Т. 33. № 9. С. 3–11.
- Федотова Ю.С., Гаджиева С.А., Богданов Ю.Ф. 1995. Проявление на ультраструктурном уровне мейотической мутации *mei10*, “компактные хромосомы” у растений ржи. – Доклады АН СССР. Т. 243. № 4. С. 570–572.
- Чельшева Л.А, Соловей И.В., Родионов А.В. и др. 1990. Хромосомы-ламповые щётки курицы: цитологические карты макрохромосом. – Цитология. Т. 32. С. 303–316.
- Чубыкин В.Л. 1995. Структура хромосомы в ооцитах, инициация спаривания гомологов и регуляция формирования кроссоверных обменов у дрозофилы. – Цитология. Т. 37. С. 481.
- Чубыкин В.Л. 2001. Роль хромосомы в неслучайном расхождении негомологичных хромосом в мейозе самок *Drosophila melanogaster*. – Генетика. Т. 37. С. 277–285.
- Чубыкин В.Л. 2009. Хромосомная природа межхромосомных связей, координирующих негомологичные хромосомы в мейозе самок дрозофилы. – Генетика. Т. 45. С. 1173–1186.
- Чубыкин В.Л. 2010. Эпигенетический механизм эффекта слабавредных мутаций на жизнеспособность потомства и их коррекция в мейозе. – Генетика. Т. 46. № 10. С. 1367–1370.
- Шеваль Е.В., Поляков В.Ю. 2006. Роль хромосомного скэффолда в поддержании структурной целостности митотических хромосом. – Онтогенез. Т. 37. № 6. С. 405–419.
- Afon'kin S.J. 1986. Spontaneous depolyploidization of cells in *Amoeba* clones with increased nuclear-DNA content. – Arch. Protistenk. Vol. 131. P. 101–112.
- Agarwal S, Roeder G.S. 2000. Zip3 provides a link between recombination enzymes and synaptonemal complex proteins. – Cell. Vol. 102. P. 245–255.

- Aggarwal D.D., Rashkovetsky E., Michalak P. et al. 2015. Experimental evolution of recombination and crossover interference in *Drosophila* caused by directional selection for stress-related traits. – BMC Biology. Vol. 13:101.
- Albertson D.G., Thomson J.N. 1982. The kinetochores of *Caenorhabditis elegans*. – Chromosoma. Vol. 86. P. 409–428.
- Albini S.M., Jones G.H. 1987. Synaptonemal complex spreading in *Allium cepa* and *A. fistulosum*. I. The initiation and sequence of pairing. – Chromosoma. Vol. 95. P. 324–338.
- Aldrich H.C., Mims C.W. 1970. Synaptonemal complexes and meiosis in Myxomycetes. – Am. J. Bot. Vol. 57. P. 935–941.
- Allers T, Lichten M. 2001. Differential timing and control of noncrossover and crossover recombination during meiosis. – Cell. Vol. 106. P.47–57.
- Alpi A., Pasierbek P., Gartner A., Loidl J. 2003. Genetic and cytological characterization of the recombination protein RAD-51 in *Caenorhabditis elegans*. – Chromosoma. Vol. 112. P. 6–16.
- Anderson L. K., Reeves A., Web L. M., Ashley T. 1999. Distribution of crossing over on mouse synaptonemal complexes using immunofluorescent localization of MLH1 protein.– Genetics. Vol. 151. P. 1569–1579.
- Anderson L.K., Doyle G.G., Brigham B, et al. 2003. High-resolution crossover maps for each bivalents of *Zea mays* using recombination nodules. – Genetics. Vol. 165. P. 849–865.
- Anderson L.K., Stack S.M. 2005. Recombination nodules in plants. – Cytogenet. Genome Res. Vol. 109. P. 198–204.
- Anderson L.K., Royer S.M., Page S.L. et al. 2005. Juxtaposition of C(2)M and the transverse filament protein C(3)G within the central region of *Drosophila* synaptonemal complex. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 102. P. 4482–4487.
- Anderson L.K., Lohmiller L.D., Tang X., et al. 2014. Combined fluorescent and electron microscopic imaging unveils the specific properties of two classes of meiotic crossovers. – Proc. Natl. Acad. Sci. Vol. 111. P. 13415–13420.
- Angelier N., Penrad-Mobayed M., Billoud B. et al. 1996. What role might lampbrush chromosomes play in maternal gene expression? – Int. Dev. Biol. Vol. 40. P. 645–652.
- Anuradha S., Muniyappa K. 2005. Molecular aspects of meiotic chromosome synapsis and recombination. – Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol. Vol. 79. P. 49–132.
- Argueso J.L., Wanat J., Gemicci Z., Alani E. 2004. Competing crossover pathways act during meiosis in *Saccharomyces cerevisiae*. – Genetics. Vol. 168. P. 1805–1816.
- Armstrong S.J., Franklin F.C.H., Jones G.H. 2003. A meiotic time-course for *Arabidopsis thaliana*. – Sexual Plant Reproduction. Vol. 16. P. 141–149.
- Arunkumar K.P., Mita K., Nagaraju J., 2009. The silkworm Z chromosome is enriched in testis-specific genes. – Genetics. Vol. 182. P. 492–501.
- Arya G.H., Lodico M.J.P., Ahmad O.I. et al. 2006. Molecular characterization of *teflon*, a gene required for meiotic autosome segregation in male *Drosophila melanogaster*. – Genetics. Vol. 174. P. 125–134.
- Auger D.L. Sheridan W.F. 2001. Negative crossover interference in maize translocation heterozygotes. – Genetics. Vol. 159. P. 1717–1726.
- Azumi Y., Liu D., Zhao D. et al. 2002. Homolog interaction during meiotic prophase I in *Arabidopsis* requires the *SOLO DANCERS* gene encoding a novel cyclin-like protein. – EMBO J. Vol. 21. P. 3081–3095.
- Baarends W.M., Grootegoed J.A. 2003. Chromatin dynamics in the male meiotic prophase. Cytogenet. – Genome Res. Vol. 103. P. 225–234.
- Bähler J., Wyler T., Loidl J., Kohli J. 1993. Unusual nuclear structures in meiotic prophase of fission yeast: a cytological analysis. – J. Cell Biol. Vol. 121. P. 241–256.

- Bai X., Peirson B. N., Dong F. et al. 1999. Isolation and characterization of *SYN1*, a RAD21-like gene essential for meiosis in *Arabidopsis*. – *Plant Cell*. Vol. 11. P. 417–430.
- Bailis J.M., Roeder G.S. 1998. Synaptonemal complex morphogenesis and sister-chromatid cohesion require Mek1-dependent phosphorylation of a meiotic chromosomal protein. – *Genes Dev*. Vol. 12. P. 3551–3563.
- Barakate A., Higgins J.D., Vivera S. et al. 2014. The synaptonemal complex protein ZYP1 is required for imposition of meiotic crossovers in barley. – *Plant Cell*. Vol. 26. No. 2. P. 729–740.
- Barber L.J., Youds J.L., Ward J.D., et al. 2008. RTEL1 maintains genomic stability by suppressing homologous recombination. – *Cell*. Vol. 135. P. 261–271.
- Barbero J.L. 2009. Cohesins: chromatin architects in chromosome segregation, control of gene expression and much more. – *Cell. Mol. Life Sci*. Vol. 66. P. 2025–2035.
- Barnes T.M., Kohara Y., Coulson A., Hekimi S. 1995. Meiotic recombination, noncoding DNA and genomic organization in *Caenorhabditis elegans*. – *Genetics*. Vol. 141. P. 159–179.
- Barrett S.L., Albertini D.F. 2007. Allocation of gamma-tubulin between oocyte cortex and meiotic spindle influences asymmetric cytokinesis in the mouse oocyte. – *Biol Reprod*. Vol. 76. P. 949–957.
- Basheva E.A., Borodin P.M., Bidau C.J. 2008. General pattern of meiotic recombination in male dogs estimated by MLH1 and RAD51 immunolocalization. – *Chrom. Res*. Vol. 16. P. 709–719.
- Bass H.W., Bordoli S.J., Foss E.M. 2003. The *desynaptic (dy)* and *desynaptic1 (dys1)* mutations in maize (*Zea mays* L.) cause distinct telomere-misplacement phenotypes during meiotic prophase. – *J. Exp. Bot*. Vol. 54. P. 39–46.
- Baudat F., Buard J., Grey C. et al. 2010. PRDM9 is a major determinant of meiotic recombination hotspots in humans and mice. – *Science*. Vol. 327. P. 836–840.
- Baudrimont A., Penkner A., Woglar A. et al. 2010. Leptotene/zygotene chromosome movement via the SUN/ KASH protein bridge in *Caenorhabditis elegans*. – *PLoS Genet*. Vol. 6. e1001219.
- Beadle G.W. 1929. A gene for supernumerary mitosis during spore development in *Zea mays*. – *Science*. Vol. 50. P. 406–407.
- Beadle G.W. 1930. Genetic and cytological studies of a mendelian asynaptic in *Zea mays*. – *Cornell Agric. Exp. Sta. Mem*. Vol. 129. P. 1–23.
- Ben-Asher H.W., Shahar I., Yitzchak A. et al. 2010. Expression and chromosomal organization of mouse meiotic genes. – *Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research*. Vol. 77. P. 241–248.
- Bennett M.D. 1971. The duration of meiosis. – *Proc. Roy. Soc. London*. Vol. B178. P. 177–299.
- Berchowitz L.E., Francis K.E., Bey A.L., Copenhaver G.P. 2007. The role of AtMUS81 in interference-insensitive crossovers in *A. thaliana*. – *PLoS Genet*. Vol. 3. e132.
- Berchowitz L.E., Copenhaver G.P. 2010. Genetic interference: don't stand so close to me. – *Curr. Genomics*. Vol. 11. P. 91–102.
- Bhalla N., Dernburg A.F. 2005. A conserved checkpoints monitor meiotic chromosome synapsis in *Caenorhabditis elegans*. – *Science*. Vol. 310. P. 1683–1686.
- Bhalla N., Wynne D.J., Jantsch V., Dernburg A.F. 2008. ZHP-3 acts at crossovers to couple meiotic recombination with synaptonemal complex disassembly and bivalent formation in *C. elegans*. – *PLoS Genet*. Vol. 4. e1000235.
- Bhatt A.M., Canales C., Dickinson H.G. 2001. Plant meiosis: the means to 1N. – *Trends Plant Sci*. Vol. 6. P. 114–121.
- Bhuijan H., Schmekel K. 2004. Meiotic chromosome synapsis in yeast can occur without spo11- induced DNA double-strand breaks. – *Genetics*. Vol. 168. P. 775–783.
- Bickel S.E., Wyman D.W., Miyazaki W.Y. et al. 1996. Identification of ORD, a *Drosophila* protein essential for sister chromatid cohesion. – *EMBO J*. Vol. 15. P. 1451–1459.

- Bickel S.E., Wyman D.W., Orr-Weaver T.L. 1997. Mutational analysis of the *Drosophila* sister-chromatid cohesion protein ORD and its role in the maintenance of centromeric cohesion. – *Genetics*. Vol. 146. P. 1319–1331.
- Bishop D.K. 1994. RecA homologs Dmc1 and Rad51 interact to form multiple nuclear complexes prior to meiotic chromosome synapsis. – *Cell*. Vol. 79. P. 1081–1092.
- Bishop D. K., Zickler D. 2004 Early decision; meiotic cross-over interference prior to stable strand exchange and synapsis. – *Cell*. Vol. 117. P. 9–15.
- Blat Y., Protacio R.U., Hunter N., Kleckner N. 2002. Physical and functional interactions among basic chromosome organizational features govern early steps of meiotic chiasma formation. – *Cell*. Vol. 111. P. 791–802.
- Bleuyard J.-Y., Gallego M.E., White C.I. 2004. Meiotic defects in the *Arabidopsis rad50* mutant point to conservation of the MRX complex function in early stages of meiotic recombination. – *Chromosoma*. Vol. 113. P. 197–203.
- Bloch D.P., Hew H.Y. 1960. Schedule of spermatogenesis in the pulmonate snail *Helix aspersa*, with special reference to histone transition. – *J. Biophys. Biochem. Cytol.* Vol. 7. P. 515–532.
- Bocker T., Barusevicius A., Snowden T., et al. 1999. Hmsh5: A human MutS homologue that forms a novel heterodimer with hMSH4 and is expressed during spermatogenesis. – *Cancer Res.* Vol. 59. P. 816–822.
- Boddy M.N., Gaillard P.H., McDonald W.H. et al. 2001. Mus81-Eme1 are essential components of a Holliday junction resolvase. – *Cell*. Vol. 107. P. 537–548.
- Bogdanov Yu.F. 1977. Formation synaptonemal-like polycomplexes at leptotene and normal synaptonemal complexes at zygotene in *Ascaris suum* male meiosis. – *Chromosoma*. Vol. 61. P. 1–21.
- Bogdanov Y.F., Fedotova Y.S., Sosnikhina S.P. et al. 1998. Bar- and thorn-like abnormalities in synaptonemal complex of a mutant rye. – *Genome*. Vol. 41. P. 284–288.
- Bogdanov Y.F., Dadashev S.Y., Grishaeva T.M. 2003. *In silico* search for functionally similar proteins involved in meiosis and recombination in evolutionarily distant organisms. – *In Silico Biol.* Vol. 3. P. 173–185.
- Bogdanov Yu. F., Grishaeva T.M., Dadashev S.Ya. 2007. Similarity of the domain structure of proteins as a basis for the evolutionarily conservation of meiosis. – *Int. Rev. Cytol.* Vol. 257. P. 83–142.
- Bogolyubov D.S. 2018. Karyosphere (Karyosome): a peculiar structure of the oocyte nucleus. – *Intern. Rev. Cell Mol. Biology*. Vol. 337. P. 1–48.
- Bogolyubov D.S., Batalova F.M., Kiselyov A.M., Stepanova I.S. 2013. Nuclear structures in *Tribolium castaneum* oocytes. – *Cell Biol. Int.* Vol. 37. P. 1061–1079.
- Bogolyubov D., Parfenov V. 2008. Structure of the insect oocyte nucleus with special reference to interchromatin granule clusters and Cajal bodies. – *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* Vol. 269. P. 59–110.
- Bongiorni S., Florenzo P., Pippoletti D., Prantera G. 2004. Inverted meiosis and meiotic drive in mealybugs. – *Chromosoma*. Vol. 112. P.332–342.
- Borde V. 2007. The multiple roles of the Mre11 complex for meiotic recombination. – *Chromosome Res.* Vol. 15. P. 551–563.
- Börner G.V., Kleckner N., Hunter N. 2004. Crossover/noncrossover differentiation, synaptonemal complex formation, and regulatory surveillance at the leptotene/zygotene transition of meiosis. – *Cell*. Vol. 117. P. 29–45.
- Borodin P.M., Gorlov I.P., Ladygina T.Yu. 1990. Synapsis in single and double heterozygotes for partially overlapping inversions in chromosome 1 of the house mouse. – *Chromosoma*. Vol. 99. P. 265–273.
- Borodin P.M., Gorlov I.P., Agulnik A.I. et al. 1991. Chromosome pairing and recombination in mice heterozygous for different translocations in chromosomes 16 and 17. – *Chromosoma*. Vol. 101. P. 252–258.

- Bouniol-Baly C., Hamraoui L., Guibert J. et al. 1999. Differential transcriptional activity associated with chromatin configuration in fully grown mouse germinal vesicle oocytes. – Biol. Reprod. Vol. 60. P. 580–587.
- Bridges C.B. 1925. Sex in relation to chromosomes and genes. – Amer. Nat. Vol. 59. P. 127–137.
- Brown R. 1951. Effects of temperature on duration of different stages of cell division in root-tips. – J. Exper. Bot. Vol. 2. P. 96–110.
- Brunet S., Maro B. 2005. Cytoskeleton and cell cycle control during meiotic maturation of the mouse oocyte: integrating time and space. – Reproduction. Vol. 130. P. 801–811.
- Buning J. 1994. The insect ovary: ultrastructure, previtellogenic growth and evolution. New York: Chapman and Hall. 400 p.
- Buonomo S.B., Clyne R.K., Fuchs J. et al. 2000. Disjunction of homologous chromosomes in meiosis I depends on proteolytic cleavage of the meiotic cohesin Rec8 by separin. – Cell. Vol. 103. P. 387–398.
- Burgoyne P.S. 1982. Genetic homology and crossing over in the X and Y chromosomes of Mammals. – Hum. Genet. Vol. 61. P. 85–90.
- Cabral G., Marques A., Schubert V., et al. 2014. Chiasmatic and achiasmatic inverted meiosis of plants with holocentric chromosomes. – Nature Communications. Vol. 5. 5070.
- Cahoon C.K., Hawley R.S. 2013. Flies get a head start on meiosis. – PLoS Genet. Vol. 9. e1004051.
- Cai X., Dong F., Edelman R.E. et al. 2003. The *Arabidopsis* SYN1 cohesin protein is required for sister chromatid arm cohesion and homologous chromosome pairing. – J. Cell Sci. Vol. 116. P. 2999–3007.
- Callan H.G. 1986. Lampbrush Chromosomes. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 252 pp.
- Callan H.G., Taylor J.H. 1968. A radioautographic study of the time course of male meiosis in the newt *Triturus vulgaris*. – J. Cell. Sci. Vol. 3. P. 615–626.
- Canales C., Bhatt A.M., Scott R. et al. 2002. EXS, a putative LRR receptor kinase, regulates male germline cell number and tapetal identity and promotes seed development in *Arabidopsis*. – Curr. Biol. Vol. 12. P. 1718–1727.
- Cande W.Z., Golubovskaya I.N., Wang C.J.R. et al. 2009. Meiotic Genes and Meiosis in Maize. – Handbook of maize. New York: Springer. P. 353–375.
- Cande W.Z., Freeling M. 2011. Inna Golubovskaya: The life of a geneticist studying meiosis. – Genetics. Vol. 188. P. 491–498.
- Carotti R. 1973. Non disjunction and heterochromatin in meiosis of males of *Drosophila melanogaster*. – Atti. Acad. Naz. Lincei Ser. Ottav. Sci. Fis. Mat. Nat. Vol. 53. P. 192–197.
- Carpenter A.T.C. 1973. A meiotic mutant defective in distributive disjunction in *Drosophila melanogaster*. – Genetics. Vol. 73. P. 393–428.
- Carpenter A.T.C. 1975a. Electron microscopy of meiosis in *Drosophila melanogaster* females. I. Structure, arrangement and temporal change of the synaptonemal complex in wild-type. – Chromosoma. Vol. 51. P. 157–182.
- Carpenter A.T.C. 1975b. Electron microscopy of meiosis in *Drosophila melanogaster* females. II. The recombination nodule – a recombination-associated structure at pachytene? – Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 72. P. 3186–3189.
- Carpenter A.T.C. 1979. Synaptonemal complexes and recombination nodules in wild-type *Drosophila melanogaster* females. – Genetics. Vol. 92. P. 511–541.
- Carpenter A.T.C. 1981. EM autoradiographic evidence that DNA synthesis occurs at recombination nodules during meiosis in *Drosophila melanogaster* females. – Chromosoma. Vol. 83. P. 59–80.
- Caryl A.P., Armstrong S.J., Jones G.H. et al. 2000. A homologue of the yeast *HOP1* gene is inactivated in the *Arabidopsis* meiotic mutant *asyl1*. – Chromosoma. Vol. 109. P. 62–71.
- Cassidy J.D., P O, King R.C. 1969. The dilatable ring canals of the ovarian cystocytes of *Habrobracon juglandis*. – Biol. Bull. Vol. 137. P. 429–437.
- Cavalier-Smith T. 2002. Origins of the machinery of recombination and sex. – Heredity. Vol. 88. P. 125–141.

- Celerin M., Merino S.T., Stone J.E. et al. 2000. Multiple roles of Spo11 in meiotic chromosome behavior. – *EMBO J.* Vol. 19. P. 2739–2750.
- Chamberlain C.J. 1935. *Gymnosperms, structure and evolution.* Chicago: Chicago Univ. Press. P. 286–287.
- Chandley A.C., Bateman A.J. 1962. Timing of spermatogenesis in *Drosophila melanogaster* using tritiated thymidine. – *Nature.* Vol. 193. P. 299–300.
- Chelysheva L., Diallo S., Vezon D. et al. 2005. AtREC8 and AtSCC3 are essential to the monopolar orientation of the kinetochores during meiosis. – *J. Cell Sci.* Vol. 118. P. 4621–4632.
- Chen S.Y., Tsubouchi T., Rockmill B. et al. 2008. Global analysis of the meiotic crossover landscape. – *Dev. Cell.* Vol. 15. P. 401–415.
- Chi J., Mahé F., Loidl J. et al. 2014. Meiosis gene inventory of four ciliates reveals the prevalence of a synaptonemal complex-independent crossover pathway. – *Mol. Biol. Evol.* Vol. 31. P. 660–672.
- Chiang K.-Sh., Sueoka N. Replication of chromosomal and cytoplasmic DNA during mitosis and meiosis in the eucaryote *Chlamydomonas reinhardtii*. – *J. Cell Physiol.* Vol. 70 (Suppl.). P. 89–112.
- Chikashige Y., Ding D.Q., Funabiki H. et al. 1994. Telomere-led premeiotic chromosome movement in fission yeast. – *Science.* Vol. 264. P. 270–273.
- Chikashige Y., Ding D.Q., Imai Y. et al. 1997. Meiotic nuclear reorganization: switching the position of centromeres and telomeres in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. – *EMBO J.* Vol. 16. P. 193–202.
- Christophorou N., Rubin T., Huynh J.-R. 2013. Synaptonemal complex components centromere pairing in pre-meiotic germ cells. – *PLoS Genet.* Vol. 9. e1004012.
- Chu S., DeRisi J., Eisen M. et al. 1998. The transcriptional program of sporulation in budding yeast. – *Science.* Vol. 282. P. 699–705.
- Chua P.R., Roeder G.S. 1998. Zip2, a meiosis-specific protein required for the initiation of chromosome synapsis. – *Cell.* Vol. 93. P. 349–359.
- Church K., Lin H.-P.P. 1985. Kinetochores microtubules and chromosome movement during prometaphase in *Drosophila melanogaster* spermatocytes studied in life and with the electron microscope. – *Chromosoma.* Vol. 92. P. 273–282.
- Clermont G., Morgentaler H., 1955. Quantitative study of spermatogenesis in the hypophysectomized rat. – *Endocrinology.* Vol. 57. P. 369–382.
- Clermont Y., Leblond C.P., Messier B. 1959. Duration of the cycle of the seminal epithelium of the rat. – *Arch. Anat. Microsc. Morphol.* Vol. 48 (Suppl.). P. 37–55.
- Cline T.W., Meyer B.J. 1996. Vive la difference: Males vs females in flies vs worms. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 30. P. 637–702.
- Cloutier J.M., Turner J.M.A. 2010. Meiotic sex chromosome inactivation. – *Curr. Biol.* Vol. 20. R962–R963.
- Cock J., Akira F., Susana M. 2011. Brown algae. – *Curr. Biol.* Vol. 21. R. 573–575.
- Colaiacono M.P., MacQueen A.J., Martinez-Perez E. et al. 2003. Synaptonemal complex assembly in *C. elegans* is dispensable for loading strand-exchange proteins but critical for proper completion of recombination. – *Dev. Cell.* Vol. 5. P. 464–474.
- Colas I., Macaulay M., Higgins J.D. et al. 2016. A spontaneous mutation in MutL-Homolog 3 (HvMLH3) affects synapsis and crossover resolution in the barley desynaptic mutant *des10*. – *New Phytol.* Vol. 212. No. 3. 693–707.
- Collins K.A., Unruh J.R., Slaughter B.D. et al. 2014. Corolla is a novel protein that contributes to the architecture of the synaptonemal complex of *Drosophila*. – *Genetics.* Vol. 198. P. 219–228.
- Comings D.E., Okada T. 1972. Holocentric chromosomes in *Oncopeltus*: kinetochores plates are present in mitosis but absent in meiosis. – *Chromosoma.* Vol. 37. P. 177–192.

- Comizzoli P., Pukazhenthil B.S., Wildt D.E. 2011. The competence of germinal vesicle oocytes is unrelated to nuclear chromatin configuration and strictly depends on cytoplasmic quantity and quality in the cat model. – *Hum. Reprod.* Vol. 26. P. 2165–2177.
- Cook P.R. 1997. The transcriptional basis of chromosome pairing. – *J. Cell Sci.* Vol. 110. P. 1033–1040.
- Cooper K.W., Zimmering S., Krivshenko J. 1955. Interchromosomal effects and segregation. – *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* Vol. 41. P. 911–914.
- Copenhaver G.P., Housworth E.A., Stahl F.W. 2002. Crossover interference in *Arabidopsis*. – *Genetics.* Vol. 160. P. 1631–1639.
- Costa Y., Speed R., Öllinger R. et al. 2005. Two novel proteins recruited by synaptonemal complex protein 1 (SYCP1) are at the center of meiosis. – *J. Cell Science.* Vol. 118. P. 2755–2762.
- Couteau F., Belzile F., Horlow C. et al. 1999. Random chromosome segregation without meiotic arrest in both male and female meiocytes of a *dmc1* mutant of *Arabidopsis*. – *Plant Cell.* Vol. 11. P. 1623–1634.
- Couteau F., Nabeshima K., Villeneuve A., Zetka M. 2004. A component of *C. elegans* meiotic chromosome axis at the interface of homolog alignment, synapse, nuclei reorganization, and recombination. – *Curr. Biol.* Vol. 14. P. 585–592.
- Couteau F., Zetka M. 2011. DNA damage during meiosis induces chromatin remodeling and synaptonemal complex disassembly. – *Dev. Cell.* Vol. 20. P. 353–363.
- Crackower M.A., Kolas N.K., Noguchi J. et al. 2003. Essential role of Fkbp6 in male fertility and homologous chromosome pairing in meiosis. – *Science.* Vol. 300. P. 1291–1295.
- Cremer T., Cremer M., Dietzel S. et al. 2006. Chromosome territories – a functional nuclear landscape. – *Curr. Opin. Cell Biol.* Vol. 18. P. 307–316.
- Crittenden S.L., Leonard K.A., Byrd D.T., Kimble J. 2006. Cellular analysis of the mitotic region in the *Caenorhabditis elegans* adult germline. – *Mol. Biol. Cell.* Vol. 17. P. 3051–3061.
- Cromer L., Jolivet S., Horlow C. et al. 2013. Centromeric cohesion is protected twice at meiosis, by SHUGOSHINS at anaphase I and by PATRONUS at interkinesis. – *Curr. Biol.* Vol. 23. P. 2090–2099.
- Cromie G.A., Hyppa R.W., Cam H.P. et al. 2007. A discrete class of intergenic DNA dictates meiotic DNA break hotspots in fission yeast. – *PLOS Genet.* Vol. 3. e141.
- Crow J.F. The importance of recombination. – R.E. Michod, B.P. Levin (eds.). *Evolution of sex.* Sunderland, Massachusetts: Sin. Associates. P. 56–73.
- Daish T.J., Casey A.E., Grutzner F. 2015. Lack of sex chromosome specific meiotic silencing in platypus reveals origin of MSCI in therian mammals. – *BMC Biology.* Vol. 13. P. 106–118.
- Daish T., Grützner F. 2019. Evolution and meiotic organization of heteromorphic sex chromosomes. – *Curr. Top. Dev. Biol.* Vol. 134. P. 1–48. doi: 10.1016/bs.ctdb.2019.01.009. Epub 2019 Feb 20.
- Dammermann A., Cipak L., Gregan J. 2012. Microtubule organization: A pericentriolar material-like structure in yeast meiosis. – *Curr. Biol.* Vol. 22. R229–R231.
- Daniel K., Lange J., Hached K. et al. 2011. Meiotic homologue alignment and its quality surveillance are controlled by mouse *HORMAD1*. – *Nature Cell Biol.* Vol. 13. P. 599–610.
- Darlington C.D. 1937. *Recent advances in cytology.* 2nd ed. L. etc.: Blakiston. 671 p.
- Davidson E.H., Hough B.R. 1971. Genetic information in oocyte RNA. – *J. Mol. Biol.* Vol. 56. P. 491–506.
- Davies O.R., Maman J.D., Pellegrini L. 2012. Structural analysis of the human SYCE2–TEX12 complex provides molecular insights into synaptonemal complex assembly. – *Open Biol.* Vol. 2. 120099.
- Dävring L., Sunner M. 1973. Female meiosis and embryonic mitosis in *Drosophila melanogaster*. I. Meiosis and fertilization. – *Hereditas.* Vol. 73. P. 51–64.
- de Boer E., Heyting C. 2006. The diverse roles of transverse filaments of synaptonemal complexes in meiosis. – *Chromosoma.* Vol. 115. P. 220–234.

- de Carvalho S.E., Zaaijer S., Smolnikov S., et al. 2008. LAB-1 antagonize the Aurora B kinase in *C. elegans*. – *Genes Dev.* Vol. 22. P. 2869–2885.
- de los Santos T., Hunter N., Lee C. et al. 2003. The Mus81/Mms4 endonuclease acts independently of double-Holliday junction resolution to promote a distinct subset of crossovers during meiosis in budding yeast. – *Genetics.* Vol. 164. P. 81–94.
- De Muyt A., Vezon D., Gendrot G. et al. 2007. AtPRD1 is required for meiotic double strand break formation in *Arabidopsis thaliana*. – *EMBO J.* Vol. 26. P. 4126–4137.
- De Muyt A., Jessop L., Kolar E. et al. 2012. BLM helicase ortholog Sgsl is a central regulator of meiotic recombination intermediate metabolism. – *Mol. Cell.* Vol. 46. P. 43–53.
- D'Erfurth I., Jolivet S., Froger N. et al. 2009. Turning Meiosis into Mitosis. – *PLoS Biol.* Vol. 7. e1000124.
- Dernburg A.F., McDonald K., Moulder G. et al. 1998. Meiotic recombination in *C. elegans* initiates by a conserved mechanism and is dispensable for homologous chromosome synapsis. – *Cell.* Vol. 94. P. 387–398.
- Deryusheva S., Krasikova A., Kulikova T., Gaginskaya E. 2007. Tandem 41-bp repeats in chicken and Japanese quail genomes: FISH mapping and transcription on lampbrush chromosomes. – *Chromosoma* Vol. 116. P. 519–530.
- Desclin J., Ortavant R. 1963. Influence des hormones gonadotropes sur la durée des processus spermatogénétiques chez le rat. – *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.* Vol. 3. P. 329–342.
- Dickinson D.J., Weis W.I., Nelson W.J. 2011. Protein Evolution in Cell and Tissue Development: Going Beyond Sequence and Transcriptional Analysis. – *Developmental Cell.* Vol. 21. P. 32–34.
- Dobson M.J., Pearlman R.E., Karaiskakis A. et al. 1994. Synaptonemal complex proteins: occurrence, epitope mapping and chromosome disjunction. – *J. Cell. Sci.* Vol. 107. P. 2749–2760.
- Dong H., Roeder G.S. 2000. Organization of the Yeast Zip1 Protein within the Central Region of the Synaptonemal Complex. – *J. Cell Biol.* Vol. 148. P. 417–426.
- Dujon B. 2006. Yeast illustrates the molecular mechanisms of eucaryotic genome evolution. – *Trends Genet.* Vol. 22. P. 375–387.
- Dumont J., Million K., Sunderla Scind K. et al. 2007. Formin-2 is required for spindle migration and for the late steps of cytokinesis in mouse oocytes. – *Dev Biol.* Vol. 301. P. 254–265.
- Dumont J., Oegema K., Desai A. 2010. A kinetochore-independent mechanism drives anaphase chromosome separation during acentrosomal meiosis. – *Nat. Cell Biol.* Vol. 12. P. 894–901.
- Egami N., Hyodo-Taguchi Y. 1967. An autoradiographic examination of rate of spermatogenesis at different temperatures in the fish, *Oryzias latipes*. – *Exp. Cell. Res.* Vol. 47. P. 665–667.
- Egel R. 1973. Genes involved in mating type expression of fission yeast. – *Mol. Gen. Genet.* Vol. 122. P. 339–343.
- Egel R. 1978. Synaptonemal complex and crossing-over: structural support or interference? – *Heredity (Edinb.)* Vol. 41. P. 233–237.
- Egel R., Penny D. 2007. On the origin of meiosis in eukaryotic evolution: coevolution of meiosis and mitosis from feeble beginnings. – R. Egel, D.-H. Lankenau (eds.). *Genome Dynamics and Stability.* Vol. 3. Recombination and Meiosis Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. P. 249–288.
- Egel-Mitani M., Olson L.W., Egel R. 1982. Meiosis in *Aspergillus nidulans*: another example for lacking synaptonemal complexes in the absence of crossover interference. – *Hereditas.* Vol. 97. P. 179–187.
- Eijpe M., Heyting C., Gross B., Jessberger R. 2000. Association of mammalian SMC1 and SMC3 proteins with meiosis chromosomes and synaptonemal complexes. – *J. Cell Sci.* Vol. 113. P. 673–682.
- Eijpe M., Offenberg H., Jessberger R. et al. 2003. Meiotic cohesin REC8 marks the axial elements of rat synaptonemal complexes before cohesins SMC1 and SMC3. – *J. Cell Biol.* Vol. 160. P. 657–670.

- Ernst H. 1938. Meiosis und Crossingover. Zytologische und genetische Untersuchungen an *Antirrhinum majus* L. – Zeitschr. f. Bot. Bd. 33. S. 241–294.
- Evans J.P., Robinson D.N. 2011. The spatial and mechanical challenges of female meiosis. – Mol. Reprod. Dev. Vol. 78. P. 769–777.
- Fallahi M., Getun I.V., Wu Z.K., Bois P.R.J. 2010. A global expression switch marks pachytene initiation during mouse male meiosis. – Genes. Vol. 1. P. 469–483.
- Fawcett D.W. 1956. The fine structure of chromosomes in the meiotic prophase of vertebrate spermatocytes. – J. Biophys. Biochem. Cytol. Vol. 2. P. 403–406.
- Fedotova Yu.S., Kolomiets O.L., Bogdanov Yu.F. 1989. Synaptonemal complex transformations in rye microsporocytes at diplotene stage of meiosis. – Genome. Vol. 32. P. 816–823.
- Feldman M. 1966. The effect of chromosome 5B, 5D, and 5A on chromosomal pairing in *Triticum aestivum*. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 55. P. 1447–1453.
- Feng X., Dickinson H.G. 2007. Packaging the male germline in plants. – Trends Genet. Vol. 23. P. 503–510.
- Fiil A., Moens P.B. 1973. The development structure and function of modified synaptonemal complexes in mosquito oocytes. – Chromosoma. Vol. 41. P. 37–61.
- FlyBase Drosophila Database (<http://flybase.org>)
- Forejt J., 1984. X-inactivation and its role in male sterility. – Chromosomes Today. Vol. 8. P. 17–22.
- Fowler K.R., Gutierrez-Velasco S., Martin-Castellanos C., Smith G.R. 2013. Protein determinants of meiotic DNA break hot spots. – Mol. Cell. Vol. 49. P. 983–996.
- Franklin A.E., McElver J., Sunjevaric I. et al. 1999. Three-dimensional microscopy of the Rad51 recombination protein during meiotic prophase. – Plant Cell. Vol. 11. P. 809–824.
- Fraune J., Alsheimer M., Volff J.-N. et al. 2012. *Hydra* meiosis reveals unexpected conservation of structural synaptonemal complex proteins across metazoans. – Proc. Nat. Acad. Sci. U S A. Vol. 109. P. 16588–16593.
- Fraune J., Brochier-Armanet C., Alsheimer M., Benavente R. 2013. Phylogenies of central element proteins reveal the dynamic evolutionary history of the mammalian synaptonemal complex: ancient and recent components. – Genetics. Vol. 195. P. 781–793.
- Fraune J., Brochier-Armanet C., Alsheimer M. et al. 2016. Evolutionary history of the mammalian synaptonemal complex. – Chromosoma. Vol. 125. P. 355–360.
- Friedland A.E., Tzur Y.B., Esvelt K.M. et al. 2013. Heritable genome editing in *C. elegans* via a CRISPR-Cas9 system. – Nat. Methods. Vol. 10. P. 741–743.
- Funabiki H., Hagan I., Uzawa S., Yanagida M. 1993. Cell cycle-dependent specific positioning and clustering of centromeres and telomeres in fission yeast. – J. Cell Biol. Vol. 121. P. 961–976.
- Gaginskaya E., Kulikova T., Krasikova A. 2009. Avian lampbrush chromosomes: a powerful tool for exploration of genome expression. – Cytogenet. Genome Res. Vol. 124. P. 251–267.
- Gall J.G. 1992. Organelle assembly and function in the amphibian germinal vesicle. – Adv. Dev. Biol. Vol. 1. P. 1–29.
- Garcia-Muse T., Boulton S.J. 2007. Meiotic recombination in *Caenorhabditis elegans*. – Chromosome Research. Vol. 15. P. 607–621.
- GeneCards (<http://www.genecards.org/cgi-bin/>)
- Gerton J., Hawley R.S. 2005. Homologous chromosome interactions in meiosis: diversity amidst conservation. – Nature Rev. Genetics. Vol. 6. P. 477–487.
- Gillies C.B. 1984. The synaptonemal complex in higher plants. – Crit. Rev. Plant Sci. Vol. 2. P. 81–116.
- Giroux C.N., Dresser M.E., Tiano H.P. 1989. Genetic control of chromosome synapsis in yeast meiosis. – Genome. Vol. 31. P. 88–94.
- Glover J., Grelon M., Craig S. et al. 1998. Cloning and characterization of *MS5* from *Arabidopsis*: a gene critical in male meiosis. – Plant J. Vol. 15. P. 345–356.

- Glöckner G., Hülsmann N., Schleicher M. et al. 2014. The genome of the foraminiferan *Reticulomyxa filosa*. – *Curr. Biol.* Vol. 24. P. 1–8.
- Goldfarb T., Lichten M. 2010. Frequent and efficient use of the sister chromatid for DNA double-strand break repair during budding yeast meiosis. – *PLoS Biol.* Vol. 8. e1000520.
- Goldman A.S.H., Hulten M.A. 1993. Meiotic analysis of a human male 46,XY,t(15;20)(q11.2;q.11.2) translocation heterozygote: quadrivalent configuration, orientation and fires meiotic segregation. – *Chromosoma.* Vol. 102. P. 102–111.
- Goldstein P. 1982. The synaptonemal complexes of *Caenorhabditis elegans*: pachytene karyotype analysis of male and hermaphrodite wild-type and him mutants. – *Chromosoma.* Vol. 86. P. 577–593.
- Goldstein P. 1985. The synaptonemal complex of *Caenorhabditis elegans*. pachytene karyotype analysis of the *Dp1* mutant and Disjunction Regulator regions. – *Chromosoma.* Vol. 93. P. 177–182.
- Goldstein P. 1987. Multiple synaptonemal complexes (polycomplexes): origin, structure and function. – *Cell Biol. Intern. Rep.* Vol. 11. P. 759–795.
- Golubovskaya I.N. 1979. Genetic control of meiosis. – *Int. Rev. Cytol.* Vol. 58. P. 247–290.
- Golubovskaya I.N. 1989. Meiosis in maize: mei-genes and conception of genetic control of meiosis. – *Adv. Genet.* Vol. 26. P. 149–192.
- Golubovskaya I.N., Avalkina N.A., Sheridan W.F. 1992. Effect of several meiotic mutations on female meiosis in maize. – *Develop. Genet.* Vol. 13. P. 411–424.
- Golubovskaya I.N., Grebennikova Z.K., Avalkina N.A. et al. 1993. The role of *ameiotic 1* gene in the initiation of meiosis and subsequent meiotic events in maize. – *Genetics.* Vol. 135. P. 1151–1166.
- Golubovskaya I.N., Avalkina N.A., Sheridan W.F. 1997. New insight into the role of the maize *ameiotic 1* locus. – *Genetics.* Vol. 147. P. 1339–1350.
- Golubovskaya I.N., Harper L.C., Pawlowski W.P. et al. 2002. The *pam1* gene is required for meiotic bouquet formation and efficient homologous synapsis in maize (*Zea mays* L.). – *Genetics.* Vol. 162. P. 1979–1993.
- Golubovskaya I.N., Hamant O., Timofejeva L. et al. 2006. Alleles of *afdl* dissect REC8 functions during meiotic prophase I. – *J. Cell Sci.* Vol. 119. P. 3306–3315.
- Gomez R., Valdeolmillos A., Parra M.T. et al. 2007. Mammalian SGO2 appears at the inner centromere domain and redistributes depending on tension across centromeres during meiosis II and mitosis. – *EMBO reports.* Vol. 8. P. 173–180.
- Goodyer W., Kaitna S., Couteau F. et al. 2008. HTP-3 links DSB formation with homolog pairing and crossing over during *C. elegans* meiosis. – *Dev. Cell.* Vol. 14. P. 263–274.
- Gowen M.S., Gowen J.W. 1922. Complete linkage in *Drosophila melanogaster*. – *Amer. Naturalist.* Vol. 56. P. 286–288.
- Gray S., Cohen P.E. 2016. Control of meiotic crossovers: from double-strand break formation to designation. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 50. P. 175–210.
- Grell R.F. 1976. Distributive pairing. – M.A. Ashburner, E. Novitski (eds.). *The Genetics and Biology of Drosophila.* L., N-Y., S-F.: Acad. Press. Vol. 1a. P. 435–486.
- Grelon M., Vezon D., Gendrot G., Pelletier G. 2001. AtSPO11-1 is necessary for efficient meiotic recombination in plants. – *EMBO J.* Vol. 20. P. 589–600.
- Grey C., Baudat F., de Massy B. 2018. PRDM9, a driver of the genetic map. – *PLOS Genet.* Vol. 14. e1007479.
- Grishaeva T.M., Bogdanov Yu.F. 1988. Dependence on genic balance for synaptonemal complex formation in *Drosophila melanogaster*. – *Genome.* Vol. 30. P. 258–264.
- Grishaeva T.M., Dadashev S.Ya., Bogdanov Yu.F. 2001. Gene *CG17604* of *Drosophila melanogaster* predicted *in silico* may be the *c(3)G* gene. – *Dros. Inform. Serv.* Vol. 84. P. 84–88.

- Grishaeva T.M., Zakharov I.A. 2012. Comparison of eukaryotic nuclear proteins with prokaryotic proteins: implications for eukaryogenesis. – *Curr. Topics in Genet.* Vol. 5. P. 31–36.
- Grishaeva T.M., Bogdanov Yu.F. 2014. Conservation and Variability of Synaptonemal Complex Proteins in Phylogenesis of Eukaryotes. – *Int. J. Evol. Biol.* Article ID 856230, 16 pages.
- Grishaeva T.M., Kulichenko D.A., Bogdanov Y.F. 2016. Bioinformatical analysis of Eukaryotic shugoshins revealed meiosis-specific features of vertebrate shugoshins. – *PeerJ.* 4:e2736.
- Grishaeva T.M., Bogdanov Y.F. 2018. Conservation of meiosis-specific nuclear proteins in eukaryotes: a comparative approach. – *The Nucleus.* Vol. 61. No. 3. P. 175–182.
- Grozeva S., Nokkala S., Smirnov N. 2006. First evidence of chromosome pre-reduction in male meiosis in the Miridae bugs (Heteroptera). – *Folia boil. (Krakow).* Vol. 54. P. 9–12.
- Gruzova M.N., Zaichikova Z.P., Sokolov I.I. 1972. Functional organization of the nucleus in oogenesis of *Chrysopa perla* L. (Insecta, Neuroptera). – *Chromosoma.* Vol. 37. P. 353–386.
- Gruzova M.N., Parfenov V.N. 1993. Karyosphere in oogenesis and intranuclear morphogenesis. – *Int. Rev. Cytol.* Vol. 144. P. 1–52.
- Guichaoua M.R., Geoffroy-Siraudin C., Tassistro V., et al. 2009. Sex chromosomes and meiosis. – *Gynecol. Obstet. Fertility.* Vol. 37. P. 895–900.
- Guioli S., Lovell-Badge R., Turner J.M. 2012. Error-prone ZW pairing and no evidence for meiotic sex chromosome inactivation in the chicken germ line. – *PLoS Genet.* Vol. 8. e1002560.
- Gutierrez-Caballero C., Cebollero L.R., Pendas A.M. 2012. Shugoshins: from protectors of cohesion to versatile adaptors at the centromere. – *Trends in Genetics.* Vol. 28. P. 351–360.
- Haering C.H., Löwe J., Hochwagen A. et al. 2002. Molecular architecture of SMC proteins and the yeast cohesin complex. – *Mol. Cell.* Vol. 9. P. 773–788.
- Halet G., Carroll J. 2007. Rac activity is polarized and regulates meiotic spindle stability and anchoring in mammalian oocytes. – *Dev. Cell.* Vol. 12. P. 309–317.
- Halfer C., Barigozzi C. 1973. Prophase synapsis in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. – *Chromosomes today.* Vol. 4. P. 181–185.
- Hamant O., Golubovskaya I., Meeley R. et al. 2005. A REC8-dependent plant Shugoshin is required for maintenance of centromeric cohesion during meiosis and has no mitotic functions. – *Curr. Biol.* Vol. 15. P. 948–954.
- Hamant O., Ma H., Cande W.Z. 2006. Genetics of meiotic prophase I in plants. – *Annu. Rev. Plant Biol.* Vol. 57. P. 267–302.
- Hamer G., Gell K., Kouznetsova A. et al. 2006. Characterization of a novel meiosis-specific protein within the central element of the synaptonemal complex. – *J. Cell Science.* Vol. 119. P. 4025–4032.
- Harigaya Y., Tanaka H., Yamanaka S. et al. 2006. Selective elimination of messenger RNA prevents an incidence of untimely meiosis. – *Nature.* Vol. 442. P. 45–50.
- Harigaya Y., Yamamoto M. 2007. Molecular mechanisms underlying the mitosis-meiosis decision. – *Chromosome Research.* Vol. 15. P. 523–537.
- Harper N.C., Rillo R., Jover-Gil S., et al. 2011. Pairing centers recruit a Polo-like kinase to orchestrate meiotic chromosome dynamics in *C. elegans*. – *Dev. Cell.* Vol. 21. P. 934–947.
- Hartung F., Puchta H. 2001. Molecular characterization of homologues of both subunits A (SPO11) and B of the archaeobacterial topoisomerase 6 in plants. – *Gene.* Vol. 271. P. 81–86.
- Hartung F., Suer S., Bergmann T. et al. 2006. The role of AtMUS81 in DNA repair and its genetic interaction with the helicase AtRecQ4A. – *Nucleic Acids Res.* Vol. 34. P. 4438–4448.
- Harvey S., Clermont J. 1962. The duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal, hypophysectomized and hypophysectomized hormone treated albino rats. – *Anat. Rec.* Vol. 142. P. 239–240.
- Hauf S., Roitinger E., Koch B. et al. 2005. Dissociation of cohesin from chromosome arms and loss of arm cohesion during early mitosis depends on phosphorylation of SA2. – *PLoS Biol.* Vol. 3. P. e69.

- Havekes F.W.J., de Jong J.H., Heyting C. et al. 1994. Synapsis and chiasma formation in four meiotic mutants of tomato (*Lycopersicon esculentum*). – Chromosome Res. Vol. 2. No. 4. P. 315–325.
- Havekes F.W., de Jong J.H., Heyting C. 1997. Comparative analysis of female and male meiosis in three meiotic mutants of tomato. – Genome. Vol. 40. P. 879–886.
- Hawley R.S. 2002. How male flies do meiosis. – Curr. Biol. Vol. 12. P. R660–R662.
- Hawley R.S. 2011. Solving a meiotic LEGO puzzle: transverse filaments and the assembly of the synaptonemal complex in *Caenorhabditis elegans*. – Genetics. Vol. 189. P. 405–409.
- Hawley R.S., Irick H., Haddox D.A. et al. 1992. There are two mechanisms of achiasmate segregation in *Drosophila* females, one of which requires heterochromatic homology. – Dev. Genet. Vol. 13. P. 440–467.
- Hawley R.S., McKim K.S., Arbel T. 1993. Meiotic segregation in *Drosophila melanogaster* females: molecules, mechanisms, and myths. – Ann. Rev. Genet. Vol. 27. P. 281–317.
- Hayashi M., Chin G.M., Villeneuve A.M. 2007. *C. elegans* germ cells switch between distinct modes of double-strand break repair during meiotic prophase progression. – PLoS Genet. Vol. 3. e191.
- He D., Fiz-Palacios O., Fu C.-J. et al. 2014. An alternative root for the eukaryote tree of life. – Curr. Biol. Vol. 24. P. 465–470.
- Heckmann S., Jankowska M., Schubert V. et al. 2014. Alternative meiotic chromatid segregation in the holocentric plant *Luzula elegans*. – Nature Communications. Vol. 5. P. 4979.
- Heller C.G., Clermon Y. 1963. Spermatogenesis in Man: An Estimate of Its Duration. – Science. Vol. 140. P. 184–186.
- Henderson K.A., Keeney S. 2004. Tying synaptonemal complex initiation to the formation and programmed repair of DNA double strand breaks. – Proc. Natl. Acad. Sci. Vol. 101. P. 4519–4524.
- Henderson S.A. 1966. Time of chiasma formation in relation to the time of deoxyribonucleic acid synthesis. – Nature. Vol. 211. P. 1043–1047.
- Herman R.K., Kari C.K. 1989. Recombination between small X chromosome duplications and the X chromosome in *Caenorhabditis elegans*. – Genetics. Vol. 121. P. 723–737.
- Herruzo E., Ontoso D., Gonzalez-Arranz S., et al. 2016. The Pch2 AAA+ ATPase promotes phosphorylation of the Hop1 meiotic checkpoint adaptor in response to synaptonemal complex defects. – Nucl. Acid Res. Vol. 44. P. 7722–7741.
- Heyting C. 1996. Synaptonemal complex: structure and function. – Curr. Opin. Cell Biol. Vol. 8. P. 389–396.
- Higgins J.D., Sanchez-Moran E., Armstrong S.J. et al. 2005. The *Arabidopsis* synaptonemal complex protein ZYP1 is required for chromosome synapsis and normal fidelity of crossing over. – Genes Dev. Vol. 19. P. 2488–2500.
- Higginson T., Li S.F., Parish R.W. 2003. AtMYB103 regulates tapetum and trichome development in *Arabidopsis thaliana*. – Plant J. Vol. 35. P. 177–192.
- Hillers K.J., Villeneuve A.M. 2003. Chromosome-wide control of meiotic crossing over in *C. elegans*. – Curr. Biol. Vol. 13. P. 1641–1647.
- Hirano T. 2005. SMC proteins and chromosome mechanics: from bacteria to humans. – Phil. Trans. R. Soc. B. Vol. 360. P. 507–514.
- Hirano T. 2012. Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions. – Genes Dev. Vol. 26. P. 1659–1678.
- Hodgkin J., Horvitz H.R., Brenner S. 1979. Nondisjunction mutants of the nematode *Caenorhabditis elegans*. – Genetics. Vol. 91. P. 67–94.
- Holland N., Giese A. 1965. An Autoradiographic Investigation of the Gonads of the Purple Sea Urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). – Biological Bulletin. Vol. 128. P. 241–258.
- Holliday R. 1964. A mechanism for gene conversion in fungi. – Genet. Res. Vol. 78. P. 282–304.

- Hollingsworth N.M., Goetsch L., Byers B. 1990. The *HOP1* gene encodes a meiosis-specific component of yeast chromosomes. – *Cell*. Vol. 61. P. 73–84.
- Hollingsworth N.M., Ponte L., Halsey C. 1995. MSH5, a novel MutS homolog, facilitates meiotic reciprocal recombination between homologs in *Saccharomyces cerevisiae* but not mismatch repair. – *Genes Dev*. Vol. 9. P. 1728–1739.
- Holm P.B. 1977. Three-dimensional reconstruction of chromosome pairing during the zygotene stage of meiosis in *Lilium longiflorum* (Thumb.). – *Carlsberg Res. Commun*. Vol. 42. P. 103–151.
- Holm P.B. 1986. Ultrastructural analysis of meiotic recombination and chiasma formation. – *Tokai J. Exp. Clin. Med*. Vol. 11. P. 415–436.
- Holm P.B., Rasmussen S.W. 1978. Three-dimensional reconstruction of meiotic chromosomes in human spermatogenesis. – *Chromosomes Today*. Vol. 6. P. 83–93.
- Holm P.B., Rasmussen S.W. 1980. Chromosome pairing, recombination nodules and chiasma formation in diploid *Bombyx mori* males. – *Carlsberg Res. Commun*. Vol. 45. P. 458–483.
- Holmes R.J., Cohen P.E. 2007. Small RNAs and RNAi pathways in meiotic prophase I. – *Chromosome Res*. Vol. 15. P. 653–665.
- Hotta Y., Stern H. 1984. The organization of DNA segments undergoing repair synthesis during pachytene. – *Chromosoma*. Vol. 84. P. 127–137.
- Howard-Till R.A., Lukaszewicz A., Novatchkova M., Loidl J. 2013. A single cohesin complex performs mitotic and meiotic functions in the protist *Tetrahymena*. – *PLOS Genet*. Vol. 9. e1003418.
- Huang J., Wang H., Xie X. et al. 2010. Developmental changes in DNA methylation of pollen mother cells of David lily during meiotic prophase I. – *Molecular Biology*. Vol. 44. P. 754–759.
- Hughes D.A., Yamamoto M. 1993. ras and signal transduction during sexual differentiation in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. – J. Kurjan, B.L. Tailor (eds.). *Signal transduction: prokaryotic and simple eukaryotic systems*. San Diego: Acad. Press. P. 123–146.
- Hughes-Schrader S. 1948. Cytology of Coccids (Coccoidea-Homoptera). – *Adv. Genet*. Vol. 2. P. 127–203.
- Hughes-Schrader S., Schrader F. 1961. The kinetochore of the Hemiptera. – *Chromosoma*. Vol. 12. P. 327–350.
- Hunter N. 2003. Synaptonemal complexities and commonalities. – *Mol. Cell*. Vol. 12. P. 533–535.
- Hunter N., Borts R.H. 1997. Mlh1 is unique among mismatch repair proteins in its ability to promote crossing-over during meiosis. – *Genes Dev*. Vol. 11. P. 1573–1582.
- Hunter N., Kleckner N. 2001. The single-end invasion: an asymmetric intermediate at the double-strand break to double-holliday junction transition of meiotic recombination. – *Cell*. Vol. 106. P. 59–70.
- Huynh J.-R., Johnson D.St. 2004. The origin of asymmetry: early polarization of the *Drosophila* germline cyst and oocyte. – *Curr. Biol*. Vol. 14. P. R438–R449.
- Ishiguro K., Watanabe Y. 2007. Chromosome cohesion in mitosis and meiosis. – *J. Cell Sci*. Vol. 120. P. 367–369.
- Ishiguro K., Kim J., Fujiyama-Nakamura S. et al. 2011. A new meiosis-specific cohesin complex implicated in the cohesin code for homologous pairing. – *EMBO Rep*. Vol. 12. No. 3. P.267–275.
- Ito M., Stern H. 1967. Studies of meiosis in vitro. I. In vitro culture of meiotic cells. – *Developm. Biol*. Vol. 16. P. 36–53.
- Jang J.K., Sherizen D.E., Bhagat R., Manheim E.A. et al. 2003. Relationship of DNA double-strand breaks to synapsis in *Drosophila*. – *J. Cell. Sci*. Vol. 116. P. 3069–3077.
- Jantsch V., Pasierbek P., Mueller M.M., Schweizer D., Jantsch M., Loidl J. 2004. Targeted gene knockout reveals a role in meiotic recombination for ZHP-3, a Zip3-related protein in *Caenorhabditis elegans*. – *Mol. Cell Biol*. Vol. 24. P. 7998–8006.
- Jenkins G., Jimenez G. 1995. Genetic control of synapsis and recombination in *Lolium amphidiploids*. – *Chromosoma*. Vol. 104. P. 164–168.

- Jenkins G., Mikhailova E.I., Langdon T. et al. 2005. Strategies for the study of meiosis in rye. *Cytogenet.* – *Genome Res.* Vol. 109. P. 221–227.
- John B. 1990. *Meiosis*. Cambridge. New York, Sydney: Cambridge University Press. 396 p.
- Jones G.H. 1987. Chiasmata. P.B. Moens (ed.). *Meiosis*. Orlando: Acad. Press. P. 213–244.
- Jolivet S., Vezon D., Froger N. et al. 2006. Non conservation of the meiotic function of the Ski8/Rec103 homolog in *Arabidopsis*. – *Genes Cells*. Vol. 11. P. 615–622.
- Jones G.H. 1971. The analysis of exchanges in tritium-labelled meiotic chromosomes. II. *Stethophyma grossum*. – *Chromosoma*. Vol. 34. P. 367–382.
- Jones G.H. 1984. The control of chiasma distribution. – *Symp. Soc. Exp. Biol.* Vol. 38. P. 293–320.
- Joshi N., Barot A., Jamison C., Börner G.V. 2009. Pch2 links chromosome axis remodeling at future crossover sites and crossover distribution during yeast meiosis. – *PLoS Genet.* Vol. 5. e1000557.
- Jounes S., Sgouros J. 2001. The cohesion complex: sequence homologies, interaction networks and shared motifs. – *Genome Biol.* Vol. 2. P. 0009.1–0009.12.
- Joyce E.F., McKim K.S. 2009. *Drosophila* PCH2 is required for a pachytene checkpoint that monitors double-strand-break-independent events leading to meiotic crossover formation. – *Genetics*. Vol. 181. P. 39–51.
- Kaitna S., Pasierbek P., Jantsch M. 2002. The Aurora B kinase AIR-2 regulates kinetochores during mitosis and is required for separation of homologous chromosomes during meiosis. – *Curr. Biol.* Vol. 12. P. 798–812.
- Kaufman B.P. 1934. Somatic mitosis of *Drosophila melanogaster*. – *J. Morphol.* Vol. 56. P. 125–156.
- Kaul M.L., Murthy T.G. 1985. Mutant genes affecting higher plant meiosis. – *Theor. Appl. Genet.* Vol. 70. P. 449–466.
- Kauppi L., Jasin M., Keeney S. 2013. How much is enough? Control of DNA double-strand break numbers in mouse meiosis. – *Cell Cycle*. Vol. 12. P. 2719–2720.
- Kaur J., Sebastian J., Siddiqi I. 2006. The *Arabidopsis*-*mei2*-like genes play a role in meiosis and vegetative growth in *Arabidopsis*. – *Plant Cell*. Vol. 18. P. 545–559.
- Keeney S. 2001. Mechanism and control of meiotic recombination initiation. – *Curr. Top. Dev. Biol.* Vol. 52. P. 1–53.
- Keeney S., Giroux C.N., Kleckner N. 1997. Meiosis-specific DNA double-strand breaks are catalyzed by Spo11, a member of a widely conserved protein family. – *Cell*. Vol. 88. P. 375–384.
- Kelly K.O., Dernburg A.F., Stanfield G.M., Villeneuve A.M. 2000. *Caenorhabditis elegans msh-5* is required for both normal and radiation-induced meiotic crossing over but not for completion of meiosis. – *Genetics*. Vol. 156. P. 617–630.
- Kerrebrock A.W., Miyazaki W.Y., Birnby D., Orr-Weaver T.L. 1992. The *Drosophila mei-S332* gene promotes sister-chromatid cohesion in meiosis following kinetochore differentiation. – *Genetics*. Vol. 130. P. 827–847.
- Kerzendorfer C., Vignard J., Pedrosa-Harand A. et al. 2006. The *Arabidopsis thaliana* MND1 homologue plays a key role in meiotic homologous pairing, synapsis and recombination. – *J. Cell Sci.* Vol. 119. P. 2486–2496.
- King, R.C. 1970a. *Ovarian Development in Drosophila melanogaster*. New York: Academic Press. 227 pp.
- King R.C. 1970b. The meiotic behavior of the *Drosophila* oocyte. – *Int. Rev. Cytol.* Vol. 28. P. 125–168.
- King R.C., Akai H. 1971. Spermatogenesis in *Bombyx mori*. II. The ultrastructure of synapsed bivalents. – *J. Morphol.* Vol. 134. P. 181–194.
- King J.S., Mortimer R.K. 1990. A polymerization model of chiasma interference and corresponding computer simulation. – *Genetics*. Vol. 126. P. 1127–1138.
- Kirckpatric M., Jenkins C.D. 1989. Genetic segregation and the maintenance of sexual reproduction. – *Nature*. Vol. 339. P. 300–301.

- Kitajima T.S., Yokobayashi S., Yamamoto M., Watanabe Y. 2003. Distinct Cohesin Complexes Organize Meiotic Chromosome Domains. – *Science*. Vol. 300. P. 1152–1155.
- Kitajima T.S., Kawashima S.A., Watanabe Y. 2004. The conserved kinetochore protein shugoshin protects centromeric cohesion during meiosis. – *Nature*. Vol. 427. P. 510–517.
- Kleckner N. 2006. Chiasma formation: chromatin/axis interplay and the role(s) of the synaptonemal complex. – *Chromosoma*. Vol. 115. P. 175–193.
- Kleckner N., Storlazzi A., Zickler D. 2003. Coordinate variation in meiotic pachytene SC length and total crossover/chiasma frequency under conditions of constant DNA level. – *Trends Genet.* Vol. 19. P. 623–628.
- Kleckner N., Zickler D., Jones G.H. et al. 2004. A mechanical basis for chromosome function. – *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 101. P. 12592–12597.
- Klein F., Mahr P., Galova M. et al. 1999. A central role for cohesions in sister chromatid cohesion, formation of axial elements, and recombination during yeast meiosis. – *Cell*. Vol. 98. P. 91–103.
- Koch E.A., Smith P.A., King R.C. 1967. The division and differentiation of *Drosophila* cystocytes. – *J. Morphol.* Vol. 121. P. 55–70.
- Kohl K.P., Jones C.D., Sekelsky J. 2012. Evolution of an MCM complex in flies that promotes meiotic crossovers by blocking BLM helicase. – *Science*. Vol. 338. P. 1363–1365.
- Kohl K.P., Sekelsky J. 2013. Meiotic and mitotic recombination in meiosis. – *Genetics*. Vol. 194. P. 327–334.
- Kohli J., Bähler J. 1994. Homologous recombination in fission yeast: absence of crossover interference and synaptonemal complex. – *Experientia*. Vol. 50. P. 295–306.
- Kolomiets O.L., Vorontsov N.N., Lyapunova E.A., Mazurova T.F. 1991. Ultrastructure, meiotic behavior, and evolution of sex chromosomes of the genus *Ellobius*. – *Genetica (Netherlands)*. Vol. 84. P. 179–189.
- Krasikova A., Deryusheva S., Galkina S. et al. 2006. On the positions of centromeres in chicken lampbrush chromosomes. – *Chromosome Res.* Vol. 14. P. 777–789.
- Kumar R., de Massy B. 2010. Initiation of meiotic recombination in mammals. – *Genes*. Vol. 1. P. 521–549.
- Kundu S.C., Bogdanov Yu.F. 1979. Ultrastructural studies of late meiotic prophase nuclei in spermatocytes of *Ascaris suum*. – *Chromosoma*. Vol. 70. P. 375–384.
- Labella S., Woglar A., Jantsch V., Zetka M. 2011. Polo kinases establish links between meiotic chromosomes and cytoskeletal forces essential for homolog pairing. – *Dev. Cell*. Vol. 21. P. 948–958.
- Lake C.M., Hawley R.S. 2012. The molecular control of meiotic chromosomal behavior: events in early meiotic prophase in *Drosophila* oocytes. – *Annu. Rev. Physiol.* Vol. 74. P. 425–451.
- Lake C.M., Nielsen R.J., Guo F. et al. 2015. Vilya, a component of the recombination nodule, is required for meiotic double-strand break formation in *Drosophila*. – *Elife*. Vol. 4. e08287.
- Lambing C., Franklin F.C.H., Wang C.-J.R. 2017. Understanding and manipulating meiotic recombination in plants. – *Plant Physiol.* Vol. 173. P. 1530–1542.
- Lambing C., Tock A.J., Choi K. et al. 2019. REC8-cohesin, chromatin and transcription orchestrate meiotic recombination in the *Arabidopsis* genome. – *bioRxiv (Preprint)* DOI: 10.1101/512400.
- Lao J.P., Oh S.D., Shinohara M. et al. 2008. Rad52 promotes postinvasion steps of meiotic double-strand-break repair. – *Mol. Cell*. Vol. 29. P. 517–524.
- Lara-Pezzi E., Pezzi N., Prieto I. et al. 2004. Evidence of a transcriptional co-activator function of cohesin STAG/SA/Sc3. – *J. Biol. Chem.* Vol. 279. P. 6553–6559.
- Larson S.M., Lee H.J., Hung P.H. et al. 2010. Cortical mechanics and meiosis II completion in mammalian oocytes are mediated by myosin-II and Ezrin-Radixin-Moesin (ERM) proteins. – *Mol. Biol. Cell*. Vol. 21. P. 3182–3192.

- Leader B., Lim H., Carabatsos M.J. et al. 2002. Formin-2, polyploidy, hypofertility and positioning of the meiotic spindle in mouse oocytes. – *Nat. Cell Biol.* Vol. 4. P. 921–928.
- Lee J., Hirano T. 2011. RAD21L, a novel cohesin subunit implicated in linking homologous chromosomes in mammalian meiosis. – *J. Cell Biol.* Vol. 192. P. 263–276.
- Lee D.V., Kao Y., Ku J. et al. 2015. The axial element protein DESYNAPTIC2 mediates meiotic double-strand break formation and synaptonemal complex assembly in maize. – *Plant Cell.* Vol. 27. P. 2516–2529.
- Li W., Chen C., Markmann-Mulisch U. et al. 2004. The Arabidopsis *AtRAD51* gene is dispensable for vegetative development but required for meiosis. – *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* Vol. 101. P. 10596–10601.
- Li J., Harper L.C., Golubovskaya I. et al. 2007. Functional analysis of maize RAD51 in meiosis and double-strand break repair. – *Genetics.* Vol. 176. P. 1469–1482.
- Liapunova N.A. 1996. Organization of replicating units and DNA replicating in mammalian cells as studied by DNA fiber radioautography. – *Int. Rev. Cytol.* Vol. 154. P. 281–308.
- Lie T., Laane M.M. 1982. Reconstruction analyses of synaptonemal complexes in haploid and diploid pachytene nuclei of *Physarum polycephalum* (Myxomycetes). – *Hereditas.* Vol. 96. P. 119–140.
- Lightfoot J., Testori S., Barroso C., Martinez-Perez E. 2011. Loading of meiotic cohesin by SCC-2 is required for processing of DSBs and for the DNA damage checkpoint. – *Curr. Biol.* Vol. 32. P. 1421–1430.
- Lima-de-Faria A. 1983. Molecular evolution and organization of the chromosome. Amsterdam etc: Elsevier. 1186 pp.
- Lima-de-Faria A., Borum K. 1962. The period of DNA synthesis prior to meiosis in the mouse. – *J. Cell Biol.* Vol. 14. P. 381–388.
- Lisachov A.P., Zadesenets K.S., Rubtsov N.B., Borodin P.M. 2015. Sex chromosome synapsis and recombination in male guppies. – *Zebrafish.* Vol. 12. P. 174–180.
- Liu H., Jang J.K., Kato N., McKim K.S. 2002. *mei-P22* encodes a chromosome-associated protein required for the initiation of meiotic recombination in *Drosophila melanogaster*. – *Genetics.* Vol. 162. P. 245–258.
- Liu J.G., Yuan L., Brundell E. et al. 1996. Localization of the N-Terminus of SCP1 to the Central Element of the Synaptonemal Complex and Evidence for Direct Interactions between the N-Termini of SCP1 Molecules Organized Head-to-Head. – *Exp. Cell Res.* Vol. 226, P. 11–19.
- Liu J.-L., Buszczak M., Gall J.G. 2006. Nuclear bodies in the *Drosophila* germinal vesicle. – *Chromosome Res.* Vol. 14. P. 465–475.
- Loidl J. 1990. The initiation of meiotic chromosome pairing: the cytological view. – *Genome.* Vol. 33. P. 759–778.
- Loidl J. 2006. *S pombe* linear elements: the modest cousins of synaptonemal complex. – *Chromosoma.* Vol. 115. P. 260–271.
- Loidl J. 2016. Conservation and variability of meiosis across the Eukaryotes. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 50. P. 293–316.
- Loidl J., Scherthan H., Kaback D.B. 1994a. Physical association between nonhomologous chromosomes precedes distributive disjunction in yeast. – *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* Vol. 91. P. 331–334.
- Loidl J., Klein F., Scherthan H. 1994b. Homologous pairing is reduced but not abolished in asynaptic mutants of yeast. – *J. Cell Biol.* Vol. 125. P. 1191–1200.
- Loidl J., Scherthan H. 2004. Organization and pairing of meiotic chromosomes in the ciliate *Tetrahymena thermophila*. – *J. Cell Sci.* Vol. 117. P. 5791–5801.
- Lorenz A., Wells J.L., Pryce D.W. et al. 2004. *S. pombe* meiotic linear elements contain proteins related to synaptonemal complex components. – *J. Cell Sci.* Vol. 117. P. 3343–3351
- Lorenz A., Estreichner A., Kohli J., Loidl J. 2006. Meiotic recombination proteins localize to linear elements in *Schizosaccharomyces pombe*. – *Chromosoma.* Vol. 115. P. 330–340.

- Lorenz A., Whitby M.C. 2012. How not to get cross(ed): a novel role for FANCM orthologs in meiotic recombination. – *Cell Cycle*. Vol. 11. P. 3347–3348.
- Losada A., Yokochi T., Kobayashi R., Hirano T. 2000. Identification and characterization of SA/Sc-c3p subunits in the *Xenopus* and human cohesin complexes. – *J. Cell Biol.* Vol. 150. P. 405–416.
- Lucchesi J.C. 1976. Interchromosomal effects. – *The genetics and biology of Drosophila*. London: Acad. Press. Vol. 1a. P. 315–329.
- Lucchesi J.C., Suzuki D.T. 1968. The interchromosomal control of recombination. – *Ann. Rev. Genet.* Vol. 2. P. 53–86.
- Lui D.Y., Colaiacovo M.P. 2013. Meiotic development in *Caenorhabditis elegans*. – *Adv. Exp. Mol. Biol.* Vol. 75. P. 133–170.
- Lundqvist U., Franckowiak J.D., Konishi T. 1997. New and revised descriptions of barley genes. – *Barley Genet. Newslett.* Vol. 26. P. 22–516.
- Luo Q., Li Y., Shen Y. et al. 2014. Ten years of gene discovery for meiotic event control in rice. – *J. Genet. Genomics.* Vol. 41. P. 125–137.
- Lynn A., Soucek R., Börner G.V. 2007. ZMM proteins during meiosis: crossover artists at work. – *Chromosome Res.* Vol. 15. P. 591–605.
- Ma H. 2005. Molecular genetic analyses of microsporogenesis and microgametogenesis in flowering plants. – *Annu. Rev. Plant Biol.* Vol. 56. P. 393–434.
- Ma W., Schubert V., Martis M.M. et al. 2016. The distribution of  $\alpha$ -kleisin during meiosis in holocentric plant *Luzula elegans*. – *Chromosome Res.* Vol. 24. P. 393–405.
- Macgregor H.C., del Pino E.M. 1982. Ribosomal gene amplification in multinucleate oocytes of the egg brooding hyloid frog *Flectonotus pygmaeus*. – *Chromosoma*. Vol. 85. P. 475–488.
- Macgregor H.C. 2012. Chromomeres revisited. – *Chromosome Res.* Vol. 20. P. 911–924.
- Macinnes M.A., Francis D. 1974. Meiosis in *Dictyostelium mucoroides*. – *Nature*. Vol. 251. P. 321–324.
- MacQueen A.J., Villeneuve A.M. 2001. Nuclear reorganization and homologous chromosome pairing during meiotic prophase require *C. elegans* CHK-2. – *Genes Dev.* Vol. 15. P. 1674–1687.
- MacQueen A.J., Colaiacovo M.P., McDonald K., Villeneuve A.M. 2002. Synapsis-dependent and -independent mechanisms stabilize homolog pairing during meiotic prophase in *C. elegans*. – *Genes Dev.* Vol. 16. P. 2428–2442.
- MacQueen A.J., Phillips C.M., Bhalla N. et al. 2005. Chromosome sites play dual role to establish homologous synapsis during meiosis in *C. elegans*. – *Cell*. Vol. 123. P. 1037–1050.
- Maguire M.P. 1992. Evolution of meiosis. – *J. Theor. Biol.* Vol. 154. P. 43–55.
- Mainiero S., Pawlowski W.P. 2014. Meiotic chromosome structure and function in plants. – *Cytogenet. Genome Res.* Vol. 143. P. 6–17.
- Malheiros N., Castro D., Câmara A. 1947. Cromosomas sem centrómero localizado. O caso de *Luzula purpurea* Link. – *Agron. Lusit.* Vol. 9. P. 51–73.
- Manhart C.M., Alani E. 2016. Roles for mismatch repair family proteins in promoting meiotic crossing over. – *DNA Repair*. Vol. 38. P. 84–93.
- Manheim E.A., McKim K.S. 2003. The synaptonemal complex component C(2)M regulates meiotic crossing over in *Drosophila*. – *Curr. Biol.* Vol. 13. P. 276–285.
- Manterola M., Page J., Vasco C. et al. 2009. A high incidence of meiotic silencing of unsynapsed chromatin is not associated with substantial pachytene loss in heterozygous male mice carrying multiple simple robertsonian translocations. – *PLoS Genet.* Vol. 8. P. 1–14.
- Manton I., Kowallik K., von Stosch H.A. 1969. Observations on the fine structure and development of the spindle at mitosis and meiosis in a marine centric diatom (*Lithodesmium undulatum*). II. The early meiotic stages in male gametogenesis. – *J. Cell Sci.* Vol. 5. P. 271–298.
- Marcon E., Moens H.B. 2005. The evolution of meiosis: recruitment and modification of somatic DNA-repair proteins. – *BioEssay*. Vol. 27. P. 795–808.

- Margulis L., Sagan D. 2002. *Acquiring Genomes. A Theory of the Origins of Species*. N.Y.: Basic Books. 230 pp.
- Marques A., Ribeiro T., Neumann P. et al. 2015. Holocentromeres in *Rhynchospora* are associated with genome-wide centromere-specific repeat arrays interspersed among euchromatin. – *Proc. Natl. Acad. Sci.* Vol. 112. P. 13633–13638.
- Martin J.S., Winkelmann N., Petalcorin M.I. et al. 2005. RAD-51-dependent and -independent roles of a *Caenorhabditis elegans* BRCA2-related protein during DNA double-strand break repair. – *Mol. Cell Biol.* Vol. 25. P. 3127–3139.
- Martinez-Perez E., Shaw P., Moore G. 2001. The *Phl* locus is needed to ensure specific somatic and meiotic centromere association. – *Nature*. Vol. 411. P. 204–207.
- Martinez-Perez E., Villeneuve A.M. 2005. HTP-1-dependent constraints coordinate homolog pairing and synapsis, and promote chiasma formation during *C. elegans* meiosis. – *Genes Dev.* Vol. 19. P. 2727–2743.
- Martini E., Diaz R.L., Hunter N., Keeney S. 2006. Crossover homeostasis in yeast meiosis. – *Cell*. Vol. 126. P. 285–295.
- Masi T., Johnson A.D. 2003. Read-through histone transcripts containing 3' adenylate tails are zygotically expressed in *Xenopus* embryos and undergo processing to mature transcripts when introduced into oocyte nuclei. – *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Vol. 304. P. 612–618.
- Mata J., Lyne R., Burns G., Bähler J. 2002. The transcriptional program of meiosis and sporulation in fission yeast. – *Nat. Genet.* Vol. 32. P. 143–147.
- Matson C.K., Murphy M.W., Griswold M.D. et al. 2010. The mammalian doublesex homolog DMRT1 is a transcriptional gatekeeper that controls the mitosis versus meiosis decision in male germ cells. – *Dev. Cell*. Vol. 19. P. 612–624.
- Matsubayashi H., Yamamoto M.-T. 1998. Dissection of Chromosome Region 89A of *Drosophila melanogaster* by Local Transposition of P Elements. – *Genes Genet. Syst.* Vol. 73. P. 95–103.
- Matzke M.A., Birchler J.A. 2005. RNAi-mediated pathways in the nucleus. – *Nat. Rev. Genet.* Vol. 6. P. 24–35.
- McKim K.S., Howell A.M., Rose A.M. 1988. The effect of translocation on recombination frequency in *Caenorhabditis elegans*. – *Genetics*. Vol. 132. P. 987–1001.
- McKim K.S., Jang J.K., Manheim E.A. 2002. Meiotic recombination and chromosome segregation in *Drosophila* females. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 36. P. 205–232.
- McNairn A.J., Gerton J.L. 2008. The chromosome glue gets a little stickier. – *Trends in Genetics*. Vol. 24. P. 382–389.
- Mehrotra S., McKim K.S. 2006. Temporal analysis of meiotic DNA double-strand break formation and repair in *Drosophila* females. – *PLoS Genet.* Vol. 2. e200.
- Meiosis. 2009. / Benavente R., Volff J.-N. (eds.). *Genome Dyn.* Basel: Karger. Vol. 5. 160 p.
- Meistrich M. 1982. Distribution and synthesis of histone 1 subfractions during spermatogenesis in the rat. – *Experim. Cell Res.* Vol. 140. P. 111–118.
- Mercier R., Vezon D., Bullier E. et al. 2001. SWITCH1 (SWI1): a novel protein required for the establishment of sister chromatid cohesion and for bivalent formation at meiosis. – *Genes Dev.* Vol. 15. P. 1859–1871.
- Mercier R., Armstrong S.J., Horlow C. et al. 2003. The meiotic protein SWI1 is required for axial element formation and recombination initiation in *Arabidopsis*. – *Development*. Vol. 130. P. 3309–3318.
- Mercier R., Grelon M. 2008. Meiosis in plants: ten years of gene discovery. – *Cytogenet. Genome Res.* Vol. 120. P. 281–290.
- Mets D.G., Meyer B.J. 2009. Condensins regulate meiotic DNA break distribution, thus crossover frequency, by controlling chromosome structure. – *Cell*. Vol. 139. P. 73–86.

- Meuwissen R.L.J., Offenbergh H.H., Dietrich A.J.J. et al. 1992. A coiled-coil related protein specific for the synapsed regions of meiotic prophase chromosomes. – *EMBO J.* Vol. 11. P. 5091–5100.
- Maynard Smith J. 1988. The evolution of recombination. – R.E. Michod, B.P. Levin (eds.). *Evolution of Sex.* Sunderland, Massachusetts: Sin. Associates. P. 106–125.
- Mézard C., Vignard J., Drouaud J. et al. 2007. The road to crossovers: plants have their say. – *Trends Genet.* Vol. 23. P. 91–99.
- Mézard C., Jahns M.T., Grelon M. 2015. Where to cross? New insights into the location of meiotic crossovers. – *Trends in Genet.* Vol. 31. P. 393–401.
- Mieulet D., Jolivet S., Rivard M. et al. 2016. Turning rice meiosis into mitosis. – *Cell Res.* Vol. 26. P. 1242–1254.
- Mikhailova E.I., Sosnikhina S.P., Kirillova G.A. et al. 2001. Nuclear dispositions of subtelomeric and pericentromeric chromosomal domains during meiosis in asynaptic mutants of rye (*Secale cereale* L.). – *J. Cell Sci.* Vol. 114. Pt. 10. P. 1875–1882.
- Mikhailova E.I., Phillips D., Sosnikhina S.P. et al. 2006. Molecular assembly of meiotic proteins *Asy1* and *Zyp1* and pairing promiscuity in rye (*Secale cereale* L.) and its synaptic mutant *sy10*. – *Genetics.* Vol. 174. P. 1247–1258.
- Mikhaylova L.M., Nurminsky D.I. 2011. Lack of global meiotic sex chromosome inactivation, and paucity of tissue-specific gene expression on the *Drosophila* X chromosome. – *BMC Biol.* Vol. 9. P. 29–39.
- Milutinovich M., Unal E., Ward C. et al. 2007. A multi-step pathway for the establishment of sister chromatid cohesion. – *PLoS Genetics.* Vol. 3. P. 0146–0157.
- Mirsky A.E., Ris H. 1949. Variable and constant components of chromosomes. – *Nature.* Vol. 163. P. 666–667.
- Mirsky A.E., Ris H. 1951. The desoxyribonucleic acid content of animal cells and its evolutionary significance. – *J. Gen. Physiol.* Vol. 34. P. 451–462.
- Miyara F., Migne C., Dumont-Hassan M. et al. 2003. Chromatin configuration and transcriptional control in human and mouse oocytes. – *Mol. Reprod. Dev.* Vol. 64. P. 458–470.
- Moens P.B., Pearlman R.E. 1988. Chromatin organization at meiosis. – *Bioessays.* Vol. 9. P. 151–153.
- Moens P.B., Kolas N., Tarsounas M., Spyropoulos B. 2001. Interaction of recombination proteins RAD51/DMC1, RPA and BLM in mouse and rat synaptonemal complex associated recombination nodules. – *J. Exp. Bot.* Vol. 52. Suppl. P. 101.
- Molnar M., Bähler J., Sipiczki M., Kohli J. 1995. The *rec8* gene of *Schizosaccharomyces pombe* is involved in linear element formation, chromosome pairing and sister-chromatid cohesion during meiosis. – *Genetics.* Vol. 141. P. 61–73.
- Molnar M., Parisi S., Kakihara Y. et al. 2001. Characterization of *rec7*, an early meiotic recombination gene in *Schizosaccharomyces pombe*. – *Genetics.* Vol. 157. P. 519–532.
- Molnar M., Doll E., Yamamoto A. et al. 2003. Linear element formation and their role in meiotic sister chromatid cohesion and chromosome pairing. – *J. Cell Sci.* Vol. 116. P. 1719–1731.
- Monesi V. 1964. Il metabolismo dell' acide ribonucleice durantelo sviluppo delle cellule germinali maschili e nelle cellule del Sertoli nel topo adulte. – *Arch. Ital. Anat. E. Embtol.* Vol. 69. P. 89–118.
- Moore G. 2002. Meiosis in allopolyploids – the importance of “Teflon” chromosomes. – *Trends Genet.* Vol. 18. P. 456–463.
- Moore D.P., Miyazaki W.Y., Tomkiel J.E., Orr-Weaver T.L. 1994. Double or nothing: a *Drosophila* mutation affecting meiotic chromosome segregation in both females and males. – *Genetics.* Vol. 136. P. 953–964.
- Morgan G.T. 2002. Lampbrush chromosomes and associated bodies: new insights into principles of nuclear structure and function. – *Chromosome Res.* Vol. 10. P. 177–200.
- Moses M.J. 1956. Chromosomal structure in cryfish spermatocytes. – *J. Biophys. Biochem. Cytol.* Vol. 2. P.215–218.

- Moses M.J. 1968. Synaptonemal complex. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 2. P. 363–412.
- Moses M.J. 1969. Structure and function of the synaptonemal complex. – *Genetics.* Vol. 61. Suppl. P. 41–52.
- Moses M.J. 1977. Microspreading and synaptonemal complex in cytogenetic study. – *Chromosomes Today.* Vol. 6. P. 71–82.
- Motamayor J.C., Vezon D., Bajon C. et al. 2000. *Switch (swi1)*, an *Arabidopsis thaliana* mutant affected in the female meiotic switch. – *Sex. Plant Reprod.* Vol. 12. P. 209–218.
- Muckenthaler F.A. 1964. Autoradiographic study of nucleic acid synthesis during spermatogenesis in the grasshopper, *Melanoplus differentialis*. – *Exp. Cell Res.* Vol. 35. P. 531–547.
- Muller H. 1916. The mechanism of crossing-over. – *Am. Nat.* Vol. 50. P. 193–221.
- Muniyappa K., Kshirsagar R., Ghodke I. 2014. The HORMA domain: an evolutionarily conserved domain discovered in chromatin-associated proteins, has unanticipated diverse functions. – *Gene.* Vol. 545. P. 194–197.
- Munz P. 1994. An analysis of interference in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. – *Genetics.* Vol. 137. P. 701–707.
- Murakami A., Imai H.T. 1974. Cytological evidence for holocentric chromosomes of the silkworms, *Bombix mori* and *B. mandarina* (Bombycidae, Lepidoptera). – *Chromosoma.* Vol. 47. P. 167–178.
- Murray A.W., Szostak J.W. 1985. Chromosome segregation in mitosis and meiosis. – *Ann. Rev. Cell Biol.* Vol. 1. P. 289–315.
- Nabeshima K., Villeneuve A.M., Hillers K.J. 2004. Chromosome-wide regulation of meiotic cross-over formation in *Caenorhabditis elegans* requires properly assembled chromosome axes. – *Genetics.* Vol. 168. P. 1275–1292.
- Nabeshima K., Villeneuve A.M., Colaiácovo M.P. 2005. Crossing over is coupled to late meiotic prophase bivalent differentiation through asymmetric disassembly of the SC. – *J. Cell Biol.* Vol. 168. P. 683–689.
- Nasmyth K., Haering C.H. 2009. Cohesin: Its roles and mechanisms. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 43. P. 525–558.
- Nokkala S., Puro J. 1976. Cytological evidence for a chromocenter in *Drosophila melanogaster* oocytes. – *Hereditas.* Vol. 83. P. 265–268.
- Nokkala S., Kuznetzova V.G., Maryanska-Nadachovska A., Nokkala C. 2006. Holocentric chromosomes in meiosis. II. The modes of orientation and segregation of trivalent. – *Chromosome Res.* Vol. 14. P. 559–565.
- Nonomura K.-I., Miyoshi K., Eiguchi M. et al. 2003. The *MSP1* gene is necessary to restrict the number of cells entering into male and female sporogenesis and to initiate anther wall formation in rice. – *Plant Cell.* Vol. 15. P. 1728–1739.
- Nonomura K.I., Nakano M., Murata K. et al. 2004. An insertional mutation in the rice *PAIR2* gene, the ortholog of *Arabidopsis ASY1*, results in a defect in homologous chromosome pairing during meiosis. – *Mol. Genet. Genomics.* Vol. 271. P. 121–129.
- Nonomura K., Morohoshi A., Nakano M. et al. 2007. A Germ Cell – Specific Gene of the ARGONAUTE Family Is Essential for the Progression of Premeiotic Mitosis and Meiosis during Sporogenesis in Rice. – *Plant Cell.* Vol. 19. P. 2583–2594.
- Nordenskiöld H. 1962. Study of meiosis in *Luzula purpurea*. – *Hereditas.* Vol. 48. P. 503–513.
- Nordenskiöld H. 1963. A study of meiosis in the progeny of X-irradiated *Luzula purpurea*. – *Hereditas.* Vol. 49. P. 33–47.
- Novitsky E., Puro J. 1978. A critique of theories of meiosis in the female of *Drosophila melanogaster*. – *Hereditas.* Vol. 89. P. 51–67.
- Ohta M., Sato M., Yamamoto M. 2012. Spindle pole body components are reorganized during fission yeast meiosis. – *Mol. Biol. Cell.* Vol. 23. P. 1799–1811.

- Oakberg E. 1956. Duration of spermatogenesis in the mouse and timing of stage of the cycle of the seminiferous epithelium. – *Amer. J. Anat.* Vol. 99. P. 507–517.
- Oksala T.A. 1962. The effect of autosomal inversion heterozygosity on crossing-over frequency in the X chromosome of *D. melanogaster*. – *Dros. Inf. Serv.* Vol. 36. P. 104–105.
- Ollinger R., Alsheimer M., Benavente R. 2005. Mammalian protein SCP1 forms synaptonemal complex-like structures in the absence of meiotic chromosomes. – *Mol. Biol. Cell.* Vol. 16. P. 212–217.
- Olson L.W., E Eden U., Egel-Mitani M., Egel R. 1978. Asynaptic meiosis in fision yeast. – *Hereditas.* Vol. 89. P. 189–199.
- Orr-Weaver T.L. 1995. Meiosis in *Drosophila*: Seeing is believing. – *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* Vol. 92. P. 10443–10449.
- Ortavant R. 1956. Action de la durée d'éclaircissement sur les processus spermatogénétiques chez le bélier. – *Compt. Rend. Soc. Biol.* Vol. 150. P. 471–474.
- Ortavant R. 1959. Spermatogenesis and morphology of the spermatozoon. – *Reproduction and Morphology of the Spermatozoon.* Vol. 1. N.Y. P. 1–46.
- Osakabe K., Yoshioka T., Ichikawa H. et al. 2002. Molecular cloning and characterization of *RAD51*-like genes from *Arabidopsis thaliana*. – *Plant Mol. Biol.* Vol. 50. P. 71–81.
- Otsuki J., Nagai Y. 2007. A phase of chromosome aggregation during meiosis in human oocytes. – *Reprod. Biomed. Online.* Vol. 15. P. 191–197.
- Page S.L., Hawley R.S. 2001. *c(3)G* encodes a *Drosophila* synaptonemal complex protein. – *Genes Devel.* Vol. 15. P. 3130–3143.
- Page S.L., Hawley R.S. 2003. Chromosome choreography: the meiotic ballet. – *Science.* Vol. 301. P. 785–789.
- Page S.L., Hawley R.S. 2004. The genetics and molecular biology of the synaptonemal complex. – *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* Vol. 20. P. 525–558.
- Page S.L., Khetani R.S., Lake C.M. et al. 2008. *corona* is required for higher-order assembly of transverse filaments into full-length synaptonemal complex in *Drosophila* oocytes. – *PLoS Genet.* Vol. 4. e1000194.
- Pan J., Sasaki M., Kniewel R., et al. 2011. A hierarchical combination of factors shapes the genome-wide topography of yeast meiotic recombination initiation. – *Cell.* Vol. 144. P. 719–731.
- Pandita T.K., Westphal C.H., Anger M. et al. 1999. *Atm* inactivation results in aberrant telomere clustering during meiotic prophase. – *Mol. Cell. Biol.* Vol. 19. P. 5096–5105.
- Papazyan R., Voronina E., Chapman J.R. et al. 2014. Methylation of histone H3K23 blocks DNA damage in pericentric heterochromatin during meiosis. – *Elife.* Vol. 3. e02996.
- Paquis-Flucklinger V., Santucci-Darmanin S., Paul R. et al. 1997. Cloning and expression analysis of a meiosis-specific MutS homolog: the human *MSH4* gene. – *Genomics.* Vol. 44. P. 188–194.
- Parfenov V.N., Davis D.S., Pochukalina G.N. et al. 1998. Dynamics of distribution of splicing components relative to the transcriptional state of human oocytes from antral follicles. – *J. Cell Biochem.* Vol. 69. P. 72–80.
- Parfenov V.N., Davis D.S., Pochukalina G.N. et al. 2000. Nuclear distribution of RNA polymerase II in human oocytes from antral follicles: dynamics relative to the transcriptional state and association with splicing factors. – *J. Cell. Biochem.* Vol. 77. P. 654–665.
- Pasierbek P., Jantsch M., Melcher M. et al. 2001. A *Caenorhabditis elegans* cohesion protein with functions in meiotic chromosome pairing and disjunction. – *Genes Devel.* Vol. 15. P. 1349–1360.
- Patil S., Moeys S., von Dassow P. et al. 2015. Identification of the meiotic toolkit in diatoms and exploration of meiosis-specific SPO11 and RAD51 homologs in the sexual species *Pseudo-nitzschia multistriata* and *Seminavis robusta*. – *BMC Genom.* Vol. 16. Article No. 930.

- Pawlowski W.P., Golubovskaya I.N., Cande W.Z. 2003. Altered nuclear distribution of recombination protein RAD51 in maize mutants suggests the involvement of RAD51 in meiotic homology recognition. – *Plant Cell*. Vol. 15. P. 1807–1816.
- Pawlowski W.P., Golubovskaya I.N., Timofejeva L. et al. 2004. Coordination of meiotic recombination, pairing, and synapsis by PHS1. – *Science*. Vol. 303. P. 89–92.
- Pawlowski W.P., Wang C.-J.R., Golubovskaya I.N. et al. 2009. Maize AMEITIC1 is essential for multiple early meiotic processes and likely required for the initiation of meiosis. – *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* Vol. 106. P. 3603–3608.
- Pearlman R.E., Tsao N., Moens P.B. 1992. Synaptonemal complexes from Dnase-treated rat pachytene chromosomes contain (Gt)(n) and *Line/Sine* sequences. – *Genetics*. Vol. 130. P. 865–872.
- Pelttari J., Hoja M.R., Yuan L. et al. 2001. A meiotic chromosomal core consisting of cohesin complex proteins recruits DNA recombination proteins and promotes synapsis in the absence of an axial element in Mammalian meiotic cells. – *Mol. Cell. Biol.* Vol. 21. P. 5667–5677.
- Penkina M.V., Karpova O.I., Bogdanov Yu.F. 2002. Synaptonemal complex proteins are specific proteins of meiotic chromosomes. – *Mol. Biol. (Moscow)*. Vol. 36. P. 397–407.
- Penkner A.M., Fridkin A., Gloggnitzer J. et al. 2009. Meiotic chromosome homology search involves modifications of the nuclear envelope protein Matefin/SUN-1. – *Cell*. Vol. 139. P. 920–933.
- Perry P., Wolff S. 1974. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. – *Nature*. Vol. 251. P. 156–158.
- Petalcorin M.I., Sandall J., Wigley D.B., Boulton S.J. 2006. CeBRC-2 stimulates D-loop formation by RAD-51 and promotes DNA single-strand annealing. – *J. Mol. Biol.* Vol. 361. P. 231–242.
- Peters J.M., Tedeschi A., Schmitz J. 2008. The cohesin complex and its roles in chromosome biology. – *Genes Dev.* Vol. 22. P. 3089–3114.
- Pezzi N., Prieto I., Kremer L. et al. 2000. *STAG3*, a novel gene encoding a protein involved in meiotic chromosome pairing and location of *STAG3*-related genes flanking the Williams-Beuren syndrome deletion. – *FASEB J.* Vol. 14. P. 581–592.
- Phadnis N., Hyppa R.W., Smith G.R. 2011. New and old ways to control meiotic recombination. – *Trends in Genet.* Vol. 27. P. 411–421.
- Phillips C.M., Wong C., Bhalla N. et al. 2005. HIM-8 binds to the X chromosome pairing center and mediates chromosome-specific meiotic synapsis. – *Cell*. Vol. 123. P. 1051–1063.
- Phillips C.M., Dernburg A.F. 2006. A family of zinc-finger proteins is required for chromosome-specific pairing and synapsis during meiosis in *C. elegans*. – *Dev. Cell*. Vol. 11. P. 817–829.
- Phillips C.M., McDonald K.L., Dernburg A.F. 2009. Cytological analysis of meiosis in *Caenorhabditis elegans*. – *Methods Mol. Biol.* Vol. 558. P. 171–195.
- Phillips D., Mikhailova E.I., Timofejeva L. et al. 2008. Dissecting meiosis of rye using translational proteomics. – *Ann. Bot.* Vol. 101. P. 873–880.
- Pochart P., Woltering D., Hollingsworth N.M. 1997. Conserved properties between functionally distinct MutS homologs in yeast. – *J. Biol. Chem.* Vol. 272. P. 30345–30349.
- Pochukalina G.N., Ilicheva N.V., Podgornaya O.I., Voronin A.P. 2016. Nucleolus-like body of mouse oocytes contains lamin A and B and TRF2 but not actin and topo II. – *Mol. Cytogenet.* Vol. 9. P. 50–63.
- Podgornaya O.I., Bugaeva E.A., Voronin A.P. et al. 2000. Nuclear envelope associated protein that binds telomeric DNAs. – *Mol. Reprod. Dev.* Vol. 57. P. 16–25.
- Prasanth K.V., Spector D. 2007. Eukaryotic regulatory RNAs: an answer to the ‘genome complexity’ conundrum. – *Genes Dev.* Vol. 21. P. 11–42.
- Prieto I., Pezzi N., Buesa J.M. et al. 2002. STAG2 and Rad21 mammalian mitotic cohesins are implicated in meiosis. – *EMBO reports*. Vol. 3. P. 543–550.
- Puizina J., Siroky J., Mokros P. et al. 2004. Mre11 deficiency in *Arabidopsis* is associated with chromosomal instability in somatic cells and *Spo11*-dependent genome fragmentation during meiosis. – *Plant Cell*. Vol. 16. P. 1968–1978.

- Qiao H., Offenberg H.H., Anderson L.K. 2012. Altered distribution of MLH1 foci is associated with changes in cohesins and chromosome axis compaction in an asynaptic mutant of tomato. – *Chromosoma*. Vol. 121. P. 291–305.
- Rabitsch K. P., Gregan J., Schleiffe A. et al. 2004. Two fission yeast homologs of *Drosophila* Mei-S332 are required for chromosome segregation during meiosis I and II. – *Curr. Biol.* Vol. 14. P. 287–301.
- Raikov I.B. 1995. Meiosis in protists: recent advances and persisting problems. – *Europ. J. Protistol.* Vol. 31. P. 1–7.
- Raju N.B., Lu B.C. 1970. Meiosis in *Coprinus*. III. Timing of meiosis in *C. lagopus* (Sensu Buller). – *Canad. J. Bot.* Vol. 48. P. 2183–2186.
- Ramesh M.A., Malik S.-B., Logsdon J.M. 2005. A phylogenomic inventory of meiotic genes: evidence for sex in *Giardia* and an early eukaryotic origin of meiosis. – *Curr. Biol.* Vol. 15. P. 185–191.
- Rasmussen S.W. 1974. Studies on the development of synaptonemal complex in *Drosophila melanogaster*. – *Compt. Rend. Trav. Lab. Carlsberg*. Vol. 39. P. 443–468.
- Rasmussen S.W. 1976. The meiotic prophase of *Bombyx mori* females analyzed by three-dimensional reconstruction of synaptonemal complexes. – *Chromosoma*. Vol. 54. P. 245–293.
- Rasmussen S.W. 1977a. The transformation of the synaptonemal complex into “elimination chromatin” in *Bombyx mori* oocytes. – *Chromosoma* Vol. 60. P. 205–221.
- Rasmussen S.W. 1977b. Chromosome pairing in triploid females of *Bombyx mori* analyzed by three dimensional reconstruction of synaptonemal complexes. – *Carlsberg Res. Commun.* Vol. 44. P. 1001–1125.
- Rasmussen S.W., Holm P.B. 1978. Human meiosis. II. Chromosome pairing and recombination nodules in human spermatocytes. – *Carlsberg Res. Commun.* Vol. 43. P. 275–288.
- Rasmussen S.W., Holm P.B. 1980. Mechanics of meiosis. – *Hereditas*. Vol. 93. P. 187–216.
- Rasmussen S.W., Holm P.B. 1982. The meiotic prophase in *Bombyx mori*. – R.C. King, H. Akai (eds.). *Insect ultrastructure*. Vol. 1. Plenum Publ. Corp. P. 61–85.
- Rasmussen S.W., Holm P.B. 1984. The synaptonemal complex, recombination nodules and chiasmata in human spermatocytes. – *Symp. Soc. Exp. Biol.* Vol. 38. P. 271–292.
- Remington J.A., Klevecz R.R. 1973. Hormone treated CHO cells exit the cell cycle in the G2-phase. – *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Vol. 50. P. 140–146.
- Revenkova E., Eijpe M., Heyting C. et al. 2001. Novel meiosis-specific isoform of mammalian SMC1. – *Molecular and Cellular Biology*. Vol. 21. P. 6984–6998.
- Revenkova E., Eijpe M., Heyting C. et al. 2004. Cohesin SMC1 beta is required for meiotic chromosome dynamics, sister chromatid cohesion and DNA recombination. – *Nat. Cell Biol.* Vol. 6. P. 555–562.
- Revenkova E., Jessberger R. 2005. Keeping sister chromatids together: Cohesins in meiosis. – *Reproduction*. Vol. 130. P. 783–790.
- Revenkova E., Jessberger R. 2006. Shaping meiotic prophase chromosomes: cohesins and synaptonemal complex proteins. – *Chromosoma*. Vol. 115. P. 235–240.
- Rey M.-D., Calderón M.C., Prieto P. 2015. The use of the *ph1b* mutant to induce recombination between the chromosomes of wheat and barley. – *Front. Plant Sci.* Vol. 6. Article 160.
- Rhoades M.M. 1956. Genetic control of chromosomal behavior. – *Maize Genet. Coop. Newsl.* Vol. 30. P. 38–48.
- Rhoades M.M. 1961. Meiosis. – J. Brachet, A.E. Mirsky (eds.). *The Cell*. Vol. III. Mitosis and Meiosis. New York, London: Academic Press. P. 1–76.
- Robinow C.F. 1977. The number of chromosomes in *Schizosaccharomyces pombe*: light microscopy of stained preparations. – *Genetics*. Vol. 87. P. 491–497.
- Rocchi Brasiello A. 1967. Studie dell'incorporazione della timidina-H3 durantela spermatogenesi di *Aselluscoxalis*. – *Acc. Naz. Dei Lincei*. Vol. 42. P. 264–268.

- Rocchi Brasiello A., Vitagliano Tadini G. 1969. Autoradiographic Study of Spermatogenesis in *Asellus Aquaticus* During Reproductive Stasis. – *Caryologia*. Vol. 22. P. 323–330.
- Rockmill B., Sym M., Scherthan H., Roeder G.S. 1995. Roles for two RecA homologs in promoting chromosome synapsis. – *Genes Dev.* Vol. 9. P. 2684–2695.
- Rodionov A.V., Galkina S.A., Lukina N.A. et al. 2002. Crossing over in chicken oogenesis, cytological and chiasma-based genetic maps of the chicken lampbrush chromosome-1. – *J. Hered.* Vol. 93. P. 125–129.
- Roeder G.S. 1997. Meiotic chromosomes: it takes two to tango. – *Genes Devel.* Vol. 11. P. 2600–2621.
- Rog O., Dernburg A.E. 2013. Chromosome pairing and synapsis during *Caenorhabditis elegans* meiosis. – *Curr. Opin. Cell Biol.* Vol.25. P. 349–356.
- Rogers E., Bishop J.D., Waddle J.A. et al. 2002. The Aurora kinase AIR-2 functions in the release of chromosome cohesion in *Caenorhabditis elegans* meiosis. – *J. Cell Biol.* Vol. 157. P. 219–229.
- Romanienko P.J., Camerini-Otero R.D. 2000. The mouse *Spoll* gene is required for meiotic chromosome synapsis. – *Mol. Cell.* Vol. 6. P. 975–987.
- Rose A.M., Baillie D.L., Curran J. 1984. Meiotic pairing behavior of two free duplications of linkage group I in *Caenorhabditis elegans*. – *Mol. Gen. Genet.* Vol. 195. P. 52–56.
- Rosenbluth R.E., Baillie D.L. 1981. The genetic analysis of a reciprocal translocation, eT1(III; V), in *Caenorhabditis elegans*. – *Genetics*. Vol. 99. P. 415–428.
- Rosiepen G., Arslan M., Clemen G. et al. 1997. Estimation of the duration of the cycle of the seminiferous epithelium in the non-human primate *Macaca mulatta* using the 5-bromodeoxyuridine technique. – *Cell and Tissue Research*. Vol. 288. P. 365–369.
- Ross-Macdonald P., Roeder G.S. 1994. Mutation of a meiosis-specific *MutS* homolog decreases crossing over but not mismatch correction. – *Cell*. Vol. 79. P. 1069–1080.
- Rosu S., Libuda D.E., Villeneuve A.M. 2011. Robust crossover assurance and regulated interhomolog access maintain meiotic crossover number. – *Science*. Vol. 334. P. 1286–1289.
- Roth T.F. 1966. Changes in the synaptonemal complex during the meiotic prophase in mosquito oocytes. – *Protoplasma*. Vol. 61. P. 345–385.
- Sagan D., Margulis L. 1987. Canibal's relief: The origin of sex. – *New Sci.* No. 6. P. 36–40.
- Sakagushi B. 1978. Gametogenesis, fertilization, and embryogenesis of the silkworm. – Y. Tazima (ed.). *The Silkworm: an important laboratory tool*. Tokyo: Kodasha. P. 5–30.
- Samara I., Vorlaufer E., Gieffers C. et al. 2000. Characterization of vertebrate cohesion complexes and their regulation in prophase. – *J. Cell Biol.* Vol. 151. P. 749–761.
- Santucci-Darmanin S., Walpita D., Lespinasse F. et al. 2000. MSH4 acts in conjunction with MLH1 during mammalian meiosis. – *FASEB J.* Vol. 14. P. 1539–1547.
- Saruhashi S., Hamada K., Miyata D. et al. 2008. Comprehensive analysis of the origin of eukaryotic genomes. – *Genes Genet. Syst.* Vol. 83 P. 285–291.
- Sato A., Isaac B., Phillips C.M. 2009. Cytoskeletal forces span the nuclear envelope to coordinate meiotic chromosome pairing and synapsis. – *Cell*. Vol. 139. P. 907–919.
- Sauerland H. 1956. Quantitative Untersuchungen von Rontgeneffekten nach Bestrahlung verschiedener Meiosisstadien bei *Lilium candidum* L. – *Chromosoma*. Vol. 7. S. 627–654.
- Sax H.J., Sax K. 1935. Chromosome structure and behavior in mitosis and meiosis. – *Journal of the Arnold Arboretum*. Vol. 16. P. 423–439.
- Sax K., Edmonds H.W. 1933. Development of the male gametophyte in *Tradescantia*. – *Bot. Gaz.* Vol. 94. P. 156–163.
- Scherthan H. 2001. A bouquet makes ends meet. – *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* Vol. 2. P. 621–627.
- Scherthan H., Loidl J., Schuster T. et al. 1992. Meiotic chromosome condensation and pairing in *Saccharomyces cerevisiae* studied by chromosome painting. – *Chromosoma*. Vol. 101. P. 590–595.
- Scherthan H., Bähler J., Kohli J. 1994. Dynamics of chromosome organization and pairing during meiotic prophase in fission yeast. – *J. Cell Biol.* Vol. 127. P. 273–285.

- Scherthan H., Weich S., Schwegler H. et al. 1996. Centromere and telomere movements during early meiotic prophase of mouse and man are associated with the onset of chromosome pairing. – *J. Cell Biol.* Vol. 134. P. 1109–1125.
- Schild-Prüfert K., Saito T.T., Smolikov S. et al. 2011. Organization of the synaptonemal complex during meiosis in *Caenorhabditis elegans*. – *Genetics*. Vol. 189. P. 411–421.
- Schimenti J. 2005. Synapsis or silence. – *Nat. Genet.* Vol. 37. P. 11–13.
- Schleiffer A., Kaitna S., Maurer-Stroh S. et al. 2003. Kleisins: a superfamily of bacterial and eukaryotic SMC protein partners. – *Mol. Cell.* Vol. 11. P. 671–676.
- Schmekel K., Daneholt B. 1995. The central region of the synaptonemal complex revealed in three dimensions. – *Trends Cell. Biol.* Vol. 5. P. 239–242.
- Schmerler S., Wessel G.M. 2011. Polar bodies – more a lack of understanding than a lack of respect. – *Mol. Reprod. Dev.* Vol. 78. P. 3–8.
- Schramm S., Fraune J., Naumann R. et al. 2011. A novel mouse synaptonemal complex protein is essential for loading of central element proteins, recombination, and fertility. – *PLoS Genet.* Vol. 7. e1002088.
- Schwacha A., Kleckner N. 1994. Identification of joint molecules that form frequently between homologs but rarely between sister chromatids during yeast meiosis. – *Cell.* Vol. 76. P. 51–63.
- Schwacha A., Kleckner N. 1995. Identification of double Holliday junctions as intermediates in meiotic recombination. – *Cell.* Vol. 83. P. 783–791.
- Seitan V.C., Banks P., Laval S. et al. 2006. Metazoan Scc4 homologs link sister chromatid cohesion to cell and axon migration guidance. – *PLoS Biol.* Vol. 4. e242.
- Sekelsky J., Brodsky M.H., Burtis K.C. 2000. DNA Repair in *Drosophila*. Insights from the *Drosophila* genome sequence. – *J. Cell Biol.* Vol. 150. P. F31–F36.
- Severson A.F., Ling L., van Zuylen V., Meyer B.J. 2009. The axial element protein HTP-3 promotes cohesin loading and meiotic axis assembly in *C. elegans* to implement the meiotic program of chromosome segregation. – *Genes Dev.* Vol. 23. P. 1763–1778.
- Sheridan W.F., Stern H. 1967. Histones of meiosis. – *Experim. Cell Res.* Vol. 45. P. 323–333.
- Sheridan W.F., Avalkina N.A., Shamrov I.I. et al. 1996. The *mac1* gene: controlling the commitment to the meiotic pathway in maize. – *Genetics*. Vol. 142. P. 1009–1020.
- Sheridan W.F., Golubeva E.A., Abrhamova L.I. et al. 1999. The *mac1* mutation alters the developmental fate of the hypodermal cells and their cellular progeny in the maize anther. – *Genetics*. Vol. 153. P. 993–941.
- Shimoda C., Hirata A., Kishida M. et al. 1985. Characterization of meiosis-deficient mutants by electron microscopy and mapping of four essential genes in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. – *Mol. Gen. Genet.* Vol. 200. P. 252–257.
- Shin Y-H., Choi Y., Erdin S.U. et al. 2010. *Hormad1* mutation disrupts synaptonemal complex formation, recombination, and chromosome segregation in mammalian meiosis. – *PLoS Genet.* Vol. 6. e1001190.
- Shinohara A., Shinohara M. 2004. Roles of RecA homologues Rad51 and Dmc1 during meiotic recombination. – *Cytogenet. Genome Res.* Vol. 107. P. 201–207.
- Shinohara M., Oh S.D., Hunter N., Shinohara A. 2008. Crossover assurance and crossover interference are distinctly regulated by the ZMM proteins during yeast meiosis. – *Nat. Genet.* Vol. 40. P. 299–309.
- Shintomi K., Hirano T. 2010. Sister chromatid resolution: a cohesin releasing network and beyond. – *Chromosoma*. Vol. 119. P. 459–467.
- Shiu P.K., Raju N.B., Zickler D., Metznerberg R.L. 2001. Meiotic silencing by unpaired DNA. – *Cell.* Vol. 107. P. 905–916.
- Shoeman R.L., Traub P. 1993. Assembly of intermediate filaments. – *BioEssays*. Vol. 15. P. 605–611.
- Siaud N., Dray E., Gy I. et al. 2004. Brca2 is involved in meiosis in *Arabidopsis thaliana* as suggested by its interaction with Dmc1. – *EMBO J.* Vol. 23. P. 1392–1401.

- Siddiqi I., Ganesh G., Grossniklaus U. et al. 2000. The dyad gene is required for progression through female meiosis in *Arabidopsis*. – *Development*. Vol. 127. P. 197–207.
- Simchen G., Piñon R., Salts Y. 1972. Sporulation in *Saccharomyces cerevisiae*: premeiotic DNA synthesis, readiness and commitment. – *Exp. Cell Res.* Vol. 75. P. 207–218.
- Sinclair DA. 1975. Crossing over between closely linked markers spanning the centromere of chromosome 3 in *Drosophila melanogaster*. – *Genet Res.* V. 11. P. 173–185.
- Singer M., Berg P. 1991. *Genes and Genomes*. Mill Valley, California: Univ. Sci. Books.
- Singh N., Bhattacharya A., Bhattacharya S. 2013. Homologous recombination occurs in *Entamoeba* and is enhanced during growth stress and stage conversion. – *PLOS ONE*. Vol. 8. e74465.
- Skibbens R.V. 2009. Establishment of sister chromatid cohesion. – *Curr. Biol.* Vol. 19. P. R1126–R1132.
- Smagulova F., Gregoretto I.V., Brick K., et al. 2011. Genome-wide analysis reveals novel molecular features of mouse recombination hotspots. – *Nature*. Vol. 472. P. 375–378.
- Smith A.V., Roeder G.S. 1997. The yeast Red1 protein localizes to the cores of meiotic chromosomes. – *J. Cell Biol.* Vol. 136. P. 957–967.
- Smith A.V., Roeder G.S. 2000. Cloning and characterization of the *Kluyveromyces lactis* homologs of the *Saccharomyces cerevisiae* *RED1* and *HOP1* genes. – *Chromosoma*. Vol. 109. P. 50–61.
- Smith G.R., Boddy M.N., Shanahan P., Russell P. 2003. Fission yeast Mus81/Emel Holliday junction resolvase is required for meiotic crossing over but not for gene conversion. – *Genetics*. Vol. 165. P. 2289–2293.
- Smith P.A., King R.C. 1968. Genetic control of synaptonemal complexes in *Drosophila melanogaster*. – *Genetics*. Vol. 60. P. 335–351.
- Smolikov S., Eizinger A., Hurlburt A. et al. 2007. Synapsis-defective mutants reveal a correlation between chromosome conformation and the mode of double-strand break repair during *Caenorhabditis elegans* meiosis. – *Genetics*. Vol. 176. P. 2027–2033.
- Smolikov S., Schild-Prufert K., Colaiacovo M.P. 2008. CRA-1 uncovers a double-strand break-dependent pathway promoting the assembly of central region proteins on chromosome axes during *C. elegans* meiosis. – *PLoS Genet.* Vol. 4. e1000088.
- Smolikov S., Schild-Prufert K., Colaiacovo M.P. 2009. A yeast two-hybrid screen for SYP-3 interactors identifies SYP-4, a component required for synaptonemal complex assembly and chiasma formation in *Caenorhabditis elegans* meiosis. – *PLoS Genet.* Vol. 5. e1000669.
- Snowden T., Acharya S., Butz C., et al. 2004. hMSH4-hMSH5 recognizes Holliday junctions and forms a meiosis-specific sliding clamp that embraces homologous chromosomes. – *Mol. Cell.* Vol. 15. P. 437–451.
- Sorensen A.-M., Kröber S., Unte U.S. et al. 2003. The *Arabidopsis* *ABORTED MICROSPORES (AMS)* gene encodes a MYC class transcription factor. – *Plant J.* Vol. 33. P. 413–423.
- Sosnikhina S.P., Fedotova Y.S., Smirnov V.G. et al. 1992. Meiotic mutants of rye *Secale cereale* L.: I. Synaptic mutant *sy1*. – *Theor. Appl. Genet.* Vol. 84. P. 979–985.
- Sosnikhina S.P., Mikhailova E.I., Tikholiz O.A. et al. 2005. Meiotic mutations in rye *Secale cereale* L. – *Cytogenet. Genome Res.* Vol. 109. P. 215–220.
- Spangenberg V., Matveevsky S., Bogdanov Y. et al. 2017. Reticulate evolution of the rock lizards: meiotic chromosome dynamics and spermatogenesis in diploid and triploid males of the genus *Darevskia*. – *Genes*. Vol. 8. P. 2–15.
- Spradling A. 1993. Developmental genetics of oogenesis. – M. Bate, A. Martinez-Arias (eds.). *The development of Drosophila melanogaster*, 1 edition. N. Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Vol. 1. P. 1–70.
- Srinivasan D.G., Fenton B., Jaubert-Possamai S., Jaouannet M. 2010. Analysis of meiosis and cell cycle genes of the facultatively asexual pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphididae). – *Insect Mol. Biol.* Vol. 19. Suppl. 2. P. 229–239.

- Srinivasan D.G., Abdelhady A., Stern D.L. 2014. Gene expression analysis of parthenogenetic embryonic development of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, suggests that aphid parthenogenesis evolved from meiotic oogenesis. – PLoS One. Vol. 9. e115099.
- Stacey N.J., Kuromori T., Azumi Y. et al. 2006. *Arabidopsis* SPO11-2 functions with SPO11-1 in meiotic recombination. – Plant J. Vol. 48. P. 206–216.
- Stack S.M., Anderson L.K. 2001. A model for chromosome structure during the mitotic and meiotic cell cycles. – Chromosome Res. Vol. 9. P.175–198.
- Stahl F.W. 1994. The Holliday junction on its thirtieth anniversary. – Genetics. Vol. 138. P. 241–246.
- Stassen N.Y., Logsdon J.M., Vora G.J. et al. 1997. Isolation and characterization of *rad51* orthologs from *Coprinus cinereus* and *Lycopersicon esculentum*, and phylogenetic analysis of eukaryotic *recA* homologs. – Curr. Genet. Vol. 31. P. 144–157.
- Stern H., Westergaard M., von Wettstein D. 1975. Presynaptic events in meiocytes of *Lilium longiflorum* and their relation to crossing over: a preselection hypothesis. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 72. P. 961–965.
- Stevens R., Grelon M., Vezon D. et al. 2004. A CDC45 homolog in *Arabidopsis* is essential for meiosis, as shown by RNA interference-induced gene silencing. – Plant Cell. Vol. 16. P. 99–113.
- Strich R. 2004. Meiotic DNA replication. – Curr. Top. Dev. Biol. Vol. 61. P. 29–60.
- Strokov A.A., Bogdanov Y.F., Reznickova S.A. 1973. A quantitative studies of histones of meiocytes. II. Polyacrilamide gel electrophoresis of isolated histones from *Lillium* microspores. – Chromosoma. Vol. 43. P. 247–260.
- Stronghill P.E., Azimi W., Hasenkampf C.A. 2014. A novel method to follow meiotic progression in *Arabidopsis* using confocal microscopy and 5-ethynyl-2'-deoxyuridine labeling. – Plant Methods. Vol. 10. P. 33–40.
- Svoboda A., Bähler J., Kohli J. 1995. Microtubule-driven nuclear movements and linear elements as meiosis-specific characteristics of the fission yeast *Schizosaccharomyces versatilis* and *Schizosaccharomyces pombe*. – Chromosoma. Vol. 104. P. 203–214.
- Sui H.-S., Liu Y., Miao D.-Q. et al. 2005. Configurations of germinal vesicle (GV) chromatin in the goat differ from those of other species. – Mol. Reprod. Dev. Vol. 71. P. 227–236.
- Suzuki D.T. 1963. Interchromosomal effect on crossing over in *Drosophila melanogaster*. II. The reexamination of X chromosome inversion effects. – Genetics. Vol. 48. P. 1605–1617.
- Suzuki T., Ide N., Tanaka I. 1997. Immunocytochemical visualization of the centromeres during male and female meiosis in *Lilium longiflorum*. – Chromosoma. Vol. 106. P. 435–445.
- Suzuki D.T., Griffith A.J.F., Miller J.H., Lewontin R.C. 1989. An introduction to genetic analysis. 4-th edition. New York: Freeman and Co.
- Swanson C.P. 1960. Cytology and cytogenetics. London: Macmillan and Co. 596 p.
- Swierstra E.E., Foote R.H. 1965. Duration of spermatogenesis and spermatozoan transport in the rabbit based on cytological changes, DNA synthesis and labeling with tritiated thymidine. – Am. J. Anat. Vol. 116. P. 401–412.
- Sym M., Engebrecht J., Roeder G.S. 1993. ZIP1 is a synaptonemal complex protein required for meiotic chromosome synapsis. – Cell. Vol. 72. P. 365–378.
- Sym M., Roeder G.S. 1995. Zip1-induced changes in synaptonemal complex structure and polycomplex assembly. – J. Cell Biol. Vol. 128. P. 455–466.
- Székvölgyi L., Ohta K., Nicokas A. 2015. Initiation of meiotic homologous recombination: flexibility, impact of histone modifications, and chromatin remodeling. – Cold Spring Harb. Respect. Biol. Vol. 7. a016527.
- Szostak J.W., Orr-Weaver T.L., Rothstein R.J., Stahl F.W. 1983. Double-strand-break repair model for recombination. – Cell. Vol. 33. P. 25–35.
- Tadzima Y. 1978. The silkworm: an important laboratory tool. Tokyo: Kodansha. 301 pp.

- Takeo S., Swanson S.K., Nandan K. et al. 2012. Shaggy/glycogen synthase kinase 3 $\beta$  and phosphorylation of Sarah/regulator of calcineurin are essential for completion of *Drosophila* female meiosis. – Proc. Nat. Acad. Sci. USA. Vol. 109. P. 6382–6389.
- Tanneti N.S., Landy K., Joyce E.F., McKim K.S. 2011. A pathway for synapsis initiation during zygotene in *Drosophila* oocytes. – Curr. Biol. Vol. 21. P. 1852–1857.
- Tarsounas M., Morita T., Pearlman R.E., Moens P.B. 1999. RAD51 and DMC1 form mixed complexes associated with mouse meiotic chromosome cores and synaptonemal complexes. – J. Cell Biol. Vol. 147. P. 207–220.
- Taylor J.H. 1950. The duration of differentiation in excised anthers. – Amer. J. Bot. Vol. 37. P. 137–143.
- Taylor J.H. 1958. Incorporation of phosphorus<sup>32</sup> into nucleic acids and proteins during microgametogenesis of *Tulbaghia*. – Amer. J. Bot. Vol. 45. P. 123–130.
- Taylor J.H. 1965. Distribution of tritium-labeled DNA among chromosomes during meiosis: I. Spermatogenesis in the Grasshopper. – J. Cell. Biol. Vol. 25. P. 57–68.
- Taylor J.H., McMaster R.D. 1954. Autoradiographic and microphotometric studies of desoxyribose nucleic acid during microgametogenesis in *Lilium longiflorum*. – Chromosoma. Vol. 6. P. 489–521.
- Taylor J.H., Woods P.S., Hughes W.I. 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. – Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. Vol. 43. P. 122–128.
- Tease C., Hulten M., 2004. Inter-sex variation in synaptonemal complex length largely determine the different recombination rate in male and female germ cells. – Cytogenet. Genome Res. Vol. 207. P.208–215.
- Tessé S., Storlazzi A., Kleckner N. et al. 2003. Localization and roles of SkiSp protein in *Sordaria* meiosis and delineation of three mechanistically distinct steps of meiotic homolog juxtaposition. – Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. Vol. 100. P. 12865–12870.
- Torgasheva A.A., Rubtsov N.B., Borodin P.M. 2013. Recombination and synaptic adjustment in oocytes of mice heterozygous for a large paracentric inversion. – Chromosome Res. Vol. 21. P. 37–48.
- Traut W. 1977. A study of recombination, formation of chiasmata and synaptonemal complexes in female and male meiosis of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). – Genetica (Hague). Vol. 47. P. 135–142.
- Trelles-Sticken E., Dresser M.E., Scherthan H. 2000. Meiotic telomere protein Ndj1 is required for meiosis-specific telomere distribution, bouquet formation and efficient homolog pairing. – J. Cell Biol. Vol. 151. P. 95–106.
- Tsai C.J., Mets D.G., Albrecht M.R. et al. 2008. Meiotic crossover number and distribution are regulated by a dosage compensation protein that resembles a condensin subunit. – Genes Dev. Vol. 22. P. 194–211.
- Tsubouchi T., Zhao H., Roeder G.S. 2006. The meiosis-specific Zip4 protein regulates crossover distribution by promoting synaptonemal complex formation together with Zip2. – Dev. Cell. Vol. 10. P. 809–819.
- Tung K.S., Roeder G.S. 1998. Meiotic chromosome morphology and behavior in *zip1* mutants of *Saccharomyces cerevisiae*. – Genetics. Vol. 149. P. 817–832.
- Turner J.M. 2007. Meiotic sex chromosome inactivation. – Development. Vol. 134. P. 1823–1831.
- Turner J.M.A., Aprelikova O., Xu X. et al 2004. BRCA1, histone H2AX phosphorylation, and male meiotic sex chromosome inactivation. – Curr. Biol. Vol. 14. P. 2135–2142.
- Turner J.M., Mahadevaiah S.K., Fernandez-Capetillo O. et al. 2005. Silencing of unsynapsed meiotic chromosomes in the mouse. – Nat. Genet. Vol. 37. P. 41–47.
- Turner J.M.A., Mahadevaiah S.K., Ellis P.J.I. et al. 2006. Pachytene asynapsis drives meiotic sex chromosome inactivation and leads to substantial postmeiotic repression in spermatids. – Develop. Cell. Vol. 10. P. 521–529.

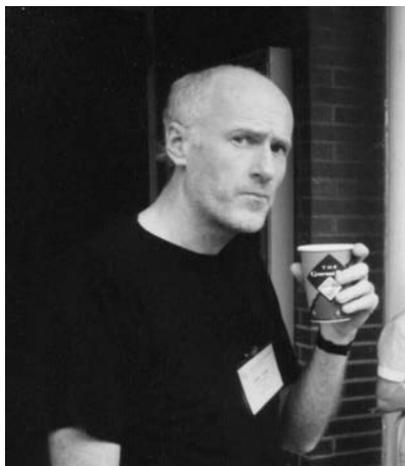
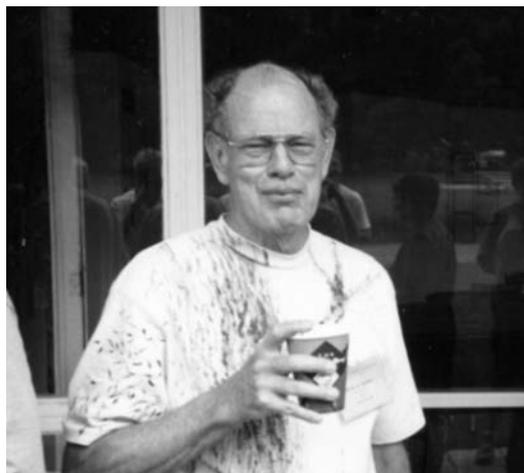
- Uhlmann F., Lottspiech F., Nasmyth K. 1999. Sister-chromatid separation at anaphase onset is promoted by cleavage of the cohesin subunit Scc1. – *Nature*. Vol. 400. P. 37–42.
- Underwood C.J., Choi K., Lambing C. et al. 2018. Epigenetic activation of meiotic recombination near *Arabidopsis thaliana* centromeres via loss of H3K9me2 and non-CG DNA methylation. – *Genome Res.* Vol. 28. P. 519–531.
- Utakoji T. 1966. Chronology of nucleic acid synthesis in meiosis of the male Chinese hamster. – *Exp. Cell. Res.* Vol. 42. P. 585–596.
- Valdeolmillos A.M., Viera A., Page J. et al. 2007. Sequential loading of cohesin subunits during the first meiotic prophase of grasshoppers. – *PLoS Genet.* Vol. 3. P. e28.
- Vasil I.K. 1959. Nucleic Acids and Survival of Excised Anthers *in vitro*. – *Science*. Vol. 129. P. 1487–1488.
- Vazquez J., Belmont A.S., Sedat J.W. 2002. The dynamics of homologous chromosome pairing during male *Drosophila* meiosis. – *Curr. Biol.* Vol. 12. P. 1473–1483.
- Vendrely R., Vendrely C. 1948. La teneur de noyau cellulaire en acide désoxyribonucléique à travers les organes, les individus et les espèces animales. – *Experientia*. Vol. 4. P. 434–436.
- Verlhac M.H., Lefebvre C., Guillaud P., Rassinier P., Maro B. 2000. Asymmetric division in mouse oocytes: with or without Mos. – *Curr. Biol.* Vol. 10. P. 1303–1306.
- Viera A., Page J., Rufas J.S. 2009. Inverted meiosis: the true bugs as a model to study meiosis. – R. Benavente, J.-N. Volff (eds.). *Genome Dynamics. V. Meiosis*. Basel: Karger. Vol. 5. P. 137–156.
- Villeneuve A.M. 1994. A cis-acting locus that promotes crossing over between X chromosomes in *Caenorhabditis elegans*. – *Genetics*. Vol. 136. P. 887–902.
- Villeneuve A.M., Hillers K.J. 2001. Whence meiosis? – *Cell*. Vol. 106. P. 647–650.
- Wang C.-J.R., Nan G.-L., Kelliher T. et al. 2012. Maize multiple archesporial cells 1 (*mac1*), an ortholog of rice TDL1A, modulates cell proliferation and identity in early anther development. – *Development*. Vol. 139. P. 2594–2603.
- Wang F., Yoder J., Antoshechkin I., Han M. 2003. *Caenorhabditis elegans* EVL-14/PDS-5 and SCC-3 are essential for sister chromatid cohesion in meiosis and mitosis. – *Mol. Cell Biol.* Vol. 23. P. 7698–7707.
- Wang M., Tang D., Wang K. et al. 2011. OsSGO1 maintains synaptonemal complex stabilization in addition to protecting centromeric cohesion during rice meiosis. – *Plant J.* Vol. 67. P. 583–594.
- Wang Y., Magnard J.-L., McCormick S. et al. 2004. Progression through meiosis I and meiosis II in *Arabidopsis* anthers is regulated by an A-type cyclin predominately expressed in prophase I. – *Plant Physiol.* Vol. 136. P. 4127–4135.
- Watanabe Y. 2005. Shugoshin: guardian spirit at the centromere. – *Curr. Opin. Cell Biol.* Vol. 17. P. 590–595.
- Weiner B.M., Kleckner N. 1994. Chromosome pairing via multiple interstitial interactions before and during meiosis in yeast. – *Cell*. Vol. 77. P. 977–991.
- Wells J.L., Pryce D.W., McFarlane R.J. 2006. Homologous chromosome pairing in *Schizosaccharomyces pombe*. – *Yeast*. Vol. 23. P. 977–989.
- West S.C. 2003. Molecular views of recombination proteins and their control. – *Nature Reviews*. Vol. 4. P. 435–445.
- West A.M.V., Rosenberg S.C., Ur S.N. et al. 2019. A conserved filamentous assembly underlies the structure of the meiotic chromosome axis. – *eLife*. Vol. 8. e40372.
- Westergaard M., Wettstein D. von. 1972. The synaptonemal complex. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 6. P. 71–110.
- Wettstein D. von. 1984. Synaptonemal complex and genetic segregation. – *Society for Experimental Biology. Symposium No. 38. Controlling Events in Meiosis*. P. 195–231.
- Wettstein D. von, Rasmussen S.W., Holm P.B. 1984. The synaptonemal complex in genetic segregation. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 18. P. 331–413.

- White G.E., Erickson H.P. 2009. The coiled coils of cohesin are conserved in animals, but not in yeast. – PLoS ONE. Vol. 4. e4674.
- Wignall S.M., Villeneuve A.M. 2009. Lateral microtubule bundles promote chromosome alignment during acentrosomal oocyte meiosis. – Nat. Cell Biol. Vol. 11. P. 839–844.
- Wilkins A. S., Holliday R. 2009. The evolution of meiosis from mitosis. – Genetics. Vol. 181. P. 3–12.
- Wilson J.Y. 1959. Duration of meiosis in relation to temperature. – Heredity. Vol. 13. P. 263–267.
- Wilson Z.A., Morroll S.M., Dawson J. et al. 2001. The *Arabidopsis* MALE STERILITY1 (*MS1*) gene is a transcriptional regulator of male gametogenesis, with homology to the PHD-finger family of transcription factors. – Plant J. Vol. 28. P. 27–39.
- Wilson Z.A., Yang C. 2004. Plant gametogenesis: conservation and contrasts in development. – Reproduction. Vol. 128. P. 483–492.
- Wimber D.E., Prensky W. 1963. Autoradiography with meiotic chromosomes of the male newt (*Triturus viridescens*) using H3-thymidine. – Genetics Vol. 48. P. 1731–1738.
- Winand N.J., Panzer J.A., Kolodner R.D. 1998. Cloning and characterization of the human and *Caenorhabditis elegans* homologs of the *Saccharomyces cerevisiae* *MSH5* gene. – Genomics. Vol. 53. P. 69–80.
- Woese C.R. 2002. On the evolution of cells. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 99. P. 8742–8747.
- Woese C.R., Kandler O., Wheelis M.I. 1990. Towards a natural system of organisms: proposals for the modern Archaea, Bacteria, Eucarya. – Proc. Natl. Acad. Sci. USA. Vol. 87. P. 4576–4579.
- Woglar A., Jantsch V. 2014. Chromosome movement in meiosis I prophase of *Caenorhabditis elegans*. – Chromosoma. Vol. 123. P. 15–24.
- Wrench D.L., Kethley J.B., Norton R.A. 1993. Cytogenetics of holokinetic chromosomes and inverted meiosis: keys to the evolutionary success of mites, with generalizations on eukaryotes. – M.A. Houck (ed.). Mites: ecological and evolutionary analyses of life history patterns. New York, London: Chapman and Hall. P. 282–343.
- Wu H.Y., Burgess S.M. 2006. Two distinct surveillance mechanisms monitor meiotic chromosome metabolism in budding yeast. – Curr. Biol. Vol. 16. P. 2473–2479.
- Wynne D.J., Rog O., Carlton P.M., Dernburg A.F. 2012. Dynein-dependent processive chromosome motions promote homologous pairing in *C. elegans* meiosis. – J. Cell Biol. Vol. 196. P. 47–64.
- Yamamoto M. 1979. Interchromosomal effects of heterochromatic deletions on recombination in *Drosophila melanogaster*. – Genetics. Vol. 93. P. 437–448.
- Yamamoto M. 2004. Initiation of meiosis. – R. Egel (ed.). The molecular Biology of *Schizosaccharomyces pombe*. Berlin: Springer-Verlag. P. 297–310.
- Yamamoto M., Imai Y., Watanabe Y. 1997. Mating and sporulation in *Schizosaccharomyces pombe*. – J.R. Pringle, J.R. Broach, E.W. Jones (eds.). The molecular and cellular biology of the yeast *Saccharomyces*; cell cycle and cell biology. Cold Spring Harbor Press. P. 1037–1106.
- Yamamoto A., Hiraoka Y. 2001. How do meiotic chromosomes meet their homologous partners?: lessons from fission yeast. – Bioessays. Vol. 23. P. 526–533.
- Yang M., Hu Y., Lodhi M. et al. 1999. The *Arabidopsis* SKP1-LIKE1 gene is essential for male meiosis and may control homologue separation. – Proc. Natl. Acad. Sci. Vol. 96. P. 11416–11421.
- Yang S.-L., Jiang L., Puah C.S. et al. 2005. Overexpression of TAPETUM DETERMINANT1 alters the cell fates in the *Arabidopsis* carpel and tapetum via genetic interaction with excess microspores/extra sporogenous cells. – Plant Physiol. Vol. 139. P. 186–191.
- Yokoo R., Zawadzki K.A., Nabeshima K., et al. 2012. COSA-1 reveals robust homeostasis and separable licensing and reinforcement steps governing meiotic crossovers. – Cell. Vol. 149. P. 75–87.
- Youds J.L., Mets D.G., McIlwraith M.J. et al. 2010. RTEL-1 enforces meiotic crossover interference and homeostasis. – Science. Vol. 327. P. 1254–1258.

- Youds J.L., Boulton S.J. 2011. The choice in meiosis – defining the factors that influence crossover or non-crossover formation. – *J. Cell Sci.* Vol. 124. P. 501–513.
- Zakharov A.F., Egolina N.A. 1972. Differential spiralization along mammalian chromosomes. I. BrdU-revealed differentiation in Chinese hamster chromosomes. – *Chromosoma (Berl.)*. Vol. 38. P. 341–365.
- Zakharyevich K., Tang S., Ma Y., Hunter N. 2012. Delineation of joint molecule resolution pathways in meiosis identifies a cross-over-specific resolvase. – *Cell*. Vol. 149. P. 334–347.
- Zalevsky J., MacQueen A.J., Duffy J.B. et al. 1999. Crossing over during *Caenorhabditis elegans* meiosis requires a conserved MutS-based pathway that is partially dispensable in budding yeast. – *Genetics*. Vol. 153. P. 1271–1283.
- Zamariola L., De Storme N., Tiang C.L. et al. 2013. SGO1 but not SGO2 is required for maintenance of centromere cohesion in *Arabidopsis thaliana* meiosis. – *Plant Reproduction*. Vol. 26. P. 197–208.
- Zamariola L., De Storme N., Vannerum K. et al. 2014. SHUGOSHINs and PATRONUS protect meiotic centromere cohesion in *Arabidopsis thaliana*. – *Plant J.* Vol. 77. P. 782–794.
- Zamudio N.M., Chong S., O'Bryan M.K. 2008. Epigenetic regulation in male germ cells. – *Reproduction*. Vol. 136. P. 131–146.
- Zatka M., Rose A. 1995. The genetics of meiosis in *Caenorhabditis elegans*. – *Trends Genet.* Vol. 11. P. 27–31.
- Zatka M.C., Kawasaki I., Strome S. et al. 1999. Synapsis and chiasma formation in *Caenorhabditis elegans* require HIM-3, a meiotic chromosome core component that functions in chromosome segregation. – *Genes Dev.* Vol. 13. P. 2258–2270.
- Zhang N., Kuznetsov S.G., Sharan S.K. et al. 2008. A handcuff model for the cohesin complex. – *J. Cell Biol.* Vol. 183. P. 1019–1031.
- Zhao D.Z., Wang G.F., Speal B. et al. 2002. The *EXCESS MICROSPOROCTES1* gene encodes a putative leucine-rich repeat receptor protein kinase that controls somatic and reproductive cell fates in the *Arabidopsis* anther. – *Genes Dev.* Vol. 16. P. 2021–2031.
- Zhao X., de Palma J., Oane R. et al. 2008. OsTDL1A binds to the LRR domain of rice receptor kinase MSP1, and is required to limit sporocyte numbers. – *Plant J.* Vol. 54. P. 375–387.
- Zhou A., Pawlowski W.P. 2014. Regulation of meiotic gene expression in plants. – *Front. Plant Sci.* Vol. 5. Article 413.
- Zickler D. 1973. Fine structure of chromosome pairing in ten Ascomycetes: Meiotic and premeiotic (mitotic) synaptonemal complexes. – *Chromosoma (Berl.)*. Vol. 40. P. 401–416.
- Zickler D. 2006. From early homologue recognition to synaptonemal complex formation. – *Chromosoma*. Vol. 115. P. 158–174.
- Zickler D., Kleckner N. 1998. The leptotene to zygotene transition of meiosis. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 32. P. 619–697.
- Zickler D., Kleckner N. 1999. Meiotic chromosomes: integrating structure and function. – *Annu. Rev. Genet.* Vol. 33. P. 603–754.
- Zickler D., Kleckner N. 2015. Recombination, pairing, and synapsis of homologs during meiosis. – *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* Vol. 7. pii: a016626.
- Zolan M.E., Pukkila P.J. 2009. Meiotic cytogenetics in *Coprinus cinereus*. – S. Keeney (ed.). *Meiosis. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*. Vol. 558. Totowa, NJ: Humana Press.

# Приложение

## Дополнения к главе 2



**Рис. 2.2.** Некоторые из ведущих исследователей мейоза в 1970–2010-х годах  
1 — Peter B. Moens (Канада), один из ведущих исследователей ультраструктуры СК и молекулярной биологии мейотических клеток. 2 — Terry Orr-Weaver (США), исследователь генов мейоза у дрозофилы, одна из авторов модели мейотической рекомбинации на основе репарации двунитевых разрывов ДНК (DSBR model). 3 — Gareth Jones, лидер британских цитогенетиков, исследователей мейоза у растений и животных. 4 — Josef Loidl (Австрия), исследователь ультраструктуры и молекулярной биологии мейоза у *S. pombe* и других одноклеточных организмов.



**Рис 2.3.** Докладчики и участники Симпозиума «Мейоз и митоз» на XIV генетическом конгрессе, Москва, 1978 год

Слева направо: 1 — Н.А. Ляпунова (СССР), 2 — D. Zickler (Франция), 3 — P.V. Holm (Дания), 4 — С.В. Gillies (Австралия), 5 — В. Lu (Канада), 6 — J. Sage (Англия), 7 — Ю.Ф. Богданов (СССР), 8 — S.W. Rasmussen (Дания); 2-5 и 8 — докладчики, 7 — организатор/председатель симпозиума.



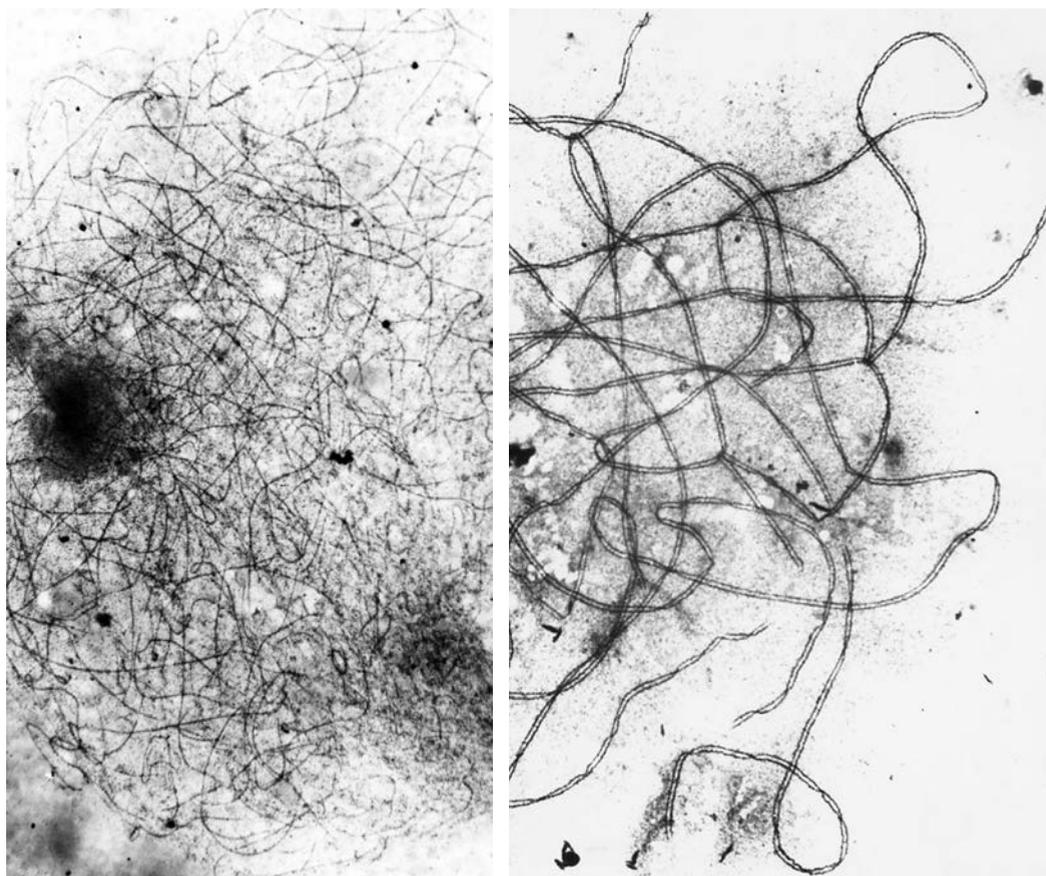
**Рис 2.4.** На экспериментальном поле Биологического НИИ Петербургского государственного университета в Старом Петергофе, 1994 г. Исследователи Петергофской коллекции мейотических мутантов ржи.

Первый ряд: 1 — Таня Федотова, 2 — С.П. Соснихина (создатель коллекции).

Второй ряд, слева направо: 1 — В.Г. Смирнов (создатель коллекции), 2 — неизвестная, 3 — Ю.С. Федотова, 3 — Е.И. Михайлова (соавтор коллекции), 4 — Ю.Ф. Богданов.

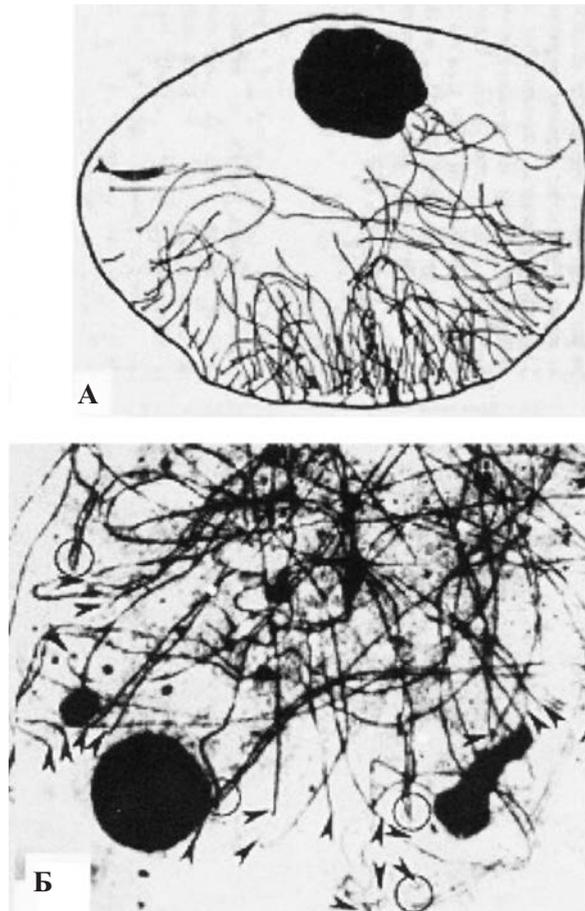
Соснихина, Смирнов, Михайлова, Федотова (дипломница кафедры) — Кафедра генетики и селекции и Биогический НИИ СПбГУ. Федотова и Богданов — ИОГен РАН

## Дополнения к главе 3



**Рис. 3.7.** Сравнение электронно-микроскопических картин распластанных на подложке ядер материнских клеток пыльцы на стадиях лептотены (слева) и пахитены (справа) мейоза у ржи

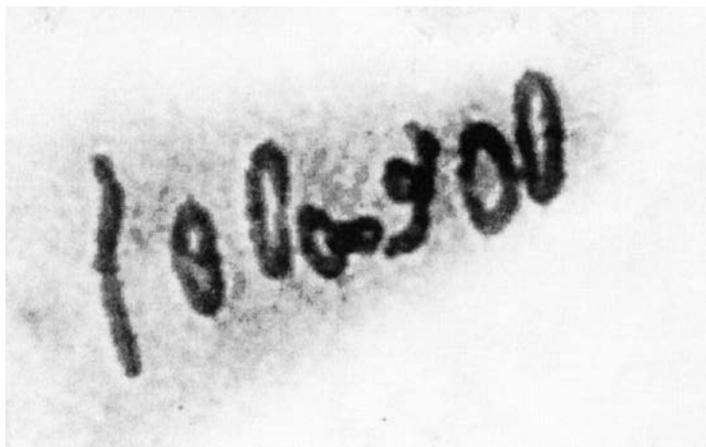
Фиксация клеток 4% формальдегидом (после гипотонического шока). Окраска уранилацетатом. На стадии лептотены видна сеть неспаренных осевых элементов хромосом, на стадии пахитены — синаптонемные комплексы. Центральный элемент СК не выявляется при таком приготовлении препаратов мейотических клеток у злаков. Фото Ю.С. Федотовой из архива Лаборатории цитогенетики ИОГен РАН.



**Рис. 3.8.** «Букет» осевых элементов хромосом и синаптонемных комплексов (СК) в зиготене мейоза у животных и растений

А — ооцит шелкопряда *Bombyx mori* ( $2n=56$ ). Реконструкция ультратонких срезов, зарисовка. Из 112 концов хромосом 102 конца контактируют с ядерной оболочкой и образуют основание «букета»; шесть концов начинают попарно формировать СК (по Расмуссену и Хольму, 1981 с изменениями).

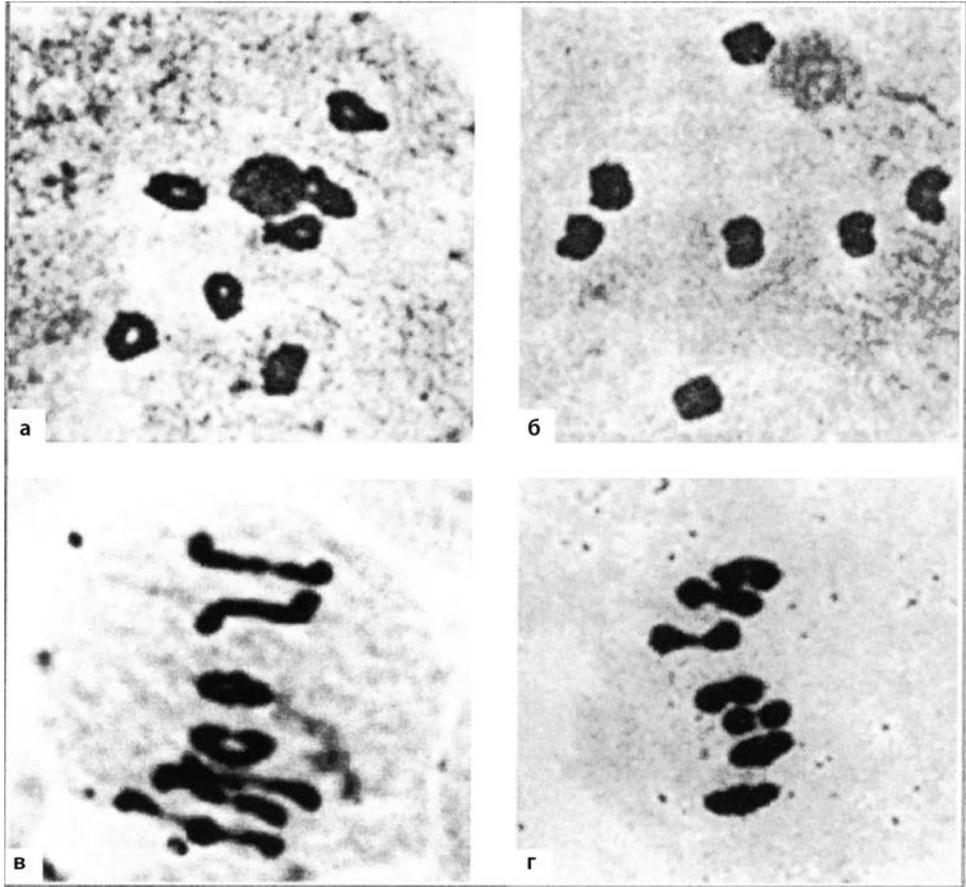
Б — электронно-микроскопическая фотография части ядра материнской клетки пыльцы ржи, *Secale cereale* ( $2n=14$ ), распластанного на подложке. Головки стрелок — неспаренные концы осевых элементов хромосом, кружки — концы СК; те и другие собраны в виде основания «букета». Видны все 28 концов хромосом, из них восемь в составе СК (ЭМ фото Ю.С. Федотовой, 1989. Архив Лаборатории цитогенетики ИОГен РАН. Из: Богданов, 2004, 2016).



**Рис. 3.9.** Метафаза I мейоза у ржи *Secale cereale*,  $2n = 14$

Видны все 7 бивалентов хромосом. Один из них (левый) с одной концевой хиазмой (палочковидный бивалент). Шесть бивалентов — с двумя хиазмами, из них четыре — кольцевых с двумя хиазмами на обоих концах у каждого, у одного бивалента есть одна концевая (на экваторе) и одна интерстициальная хиазма (третий бивалент справа), у другого — три хиазмы: две концевых и одна — в длинном плече (средний бивалент из 7). Фиксация — в стандартной смеси: спирт-уксусная кислота, 3:1. Окраска уксуснокислым кармином. Несмотря на большие размеры хромосом ржи, три хиазмы среди всех бивалентов встречаются крайне редко, так как хромосомы ржи содержат избыток гетерохроматина (более 90% повторяющихся последовательностей нуклеотидов в геномной ДНК), в котором, как правило, не бывает хиазм (см. гл. 4).

## Дополнения к главе 7



**Рис. 7.6.** Хромосомы в мейозе у нормальных растений и мейотических мутантов *compact meiotic chromosomes*

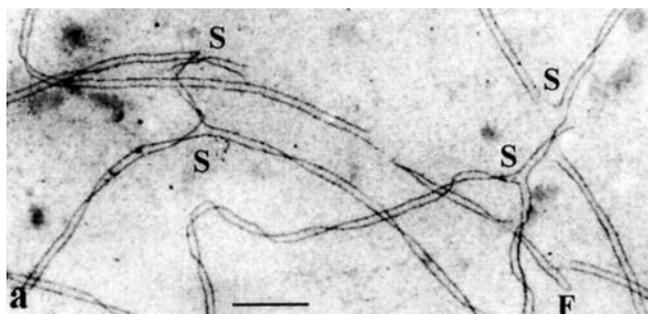
Иллюстрация проявления в мейозе закона гомологических рядов изменчивости Н.И. Вавилова.

По горизонтали: а, в — ячмень *Hordeum vulgare*, б, г — рожь *Secale cereale*

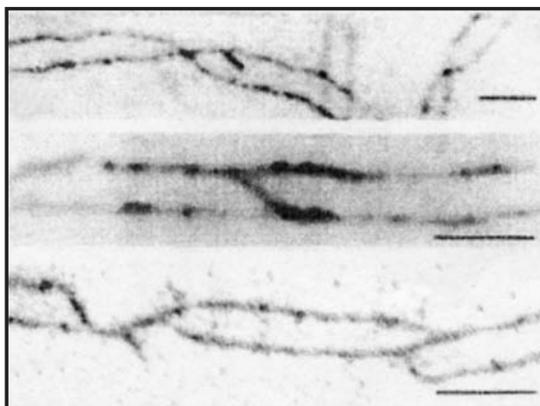
По вертикали: слева (а, в) — нормальный мейоз, справа (б, г) — мейоз у мутантов *compact meiotic chromosomes*.

Мутант ячменя описан Moh and Nilan, 1954 (Цитировано по: Богданов, 2004).

Мутант ржи обнаружен С.П. Соснихиной (персональное сообщение и микрофотографии С.П. Соснихиной). Цитировано по: Богданов, 2004, 2016.



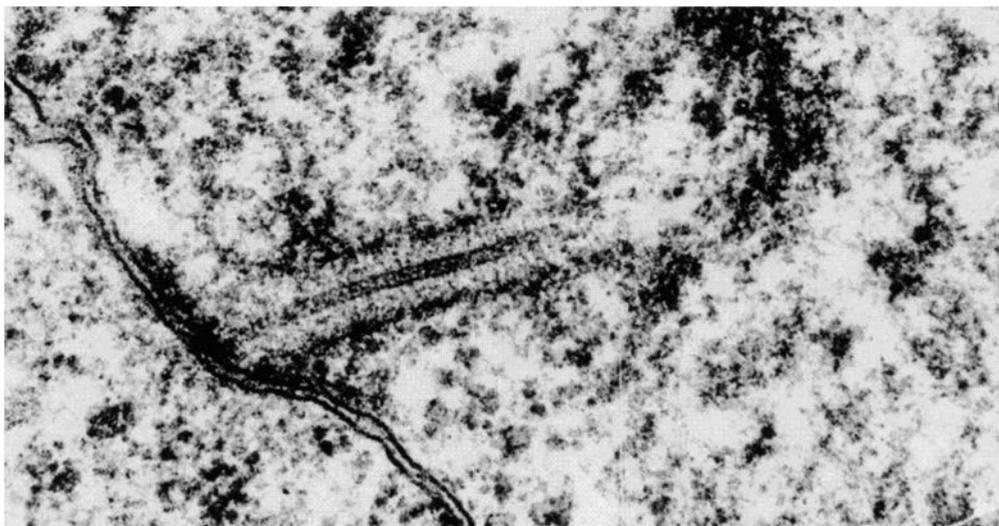
**Рис. 7.7.** Смена партнеров синапсиса латеральных элементов СК (переключение обозначено буквой S) и складка латерального элемента (F, foldback) у синаптического мутанта *sy10* ржи (по Fedotova et al., 1994; Sosnikhina et al., 2005 с изменениями)



**Рис. 7.8.** Нарушение самосборки латеральных элементов СК у синаптического мутанта из инбредной линии Ms6 ржи *Secale cereale*

Электронная микроскопия на распластанных мейотических ядрах, фиксированных формальдегидом и окрашенных уранилацетатом. Видны шипы (наросты) на латеральных элементах СК, косые и U-образные перемычки между латеральными элементами СК и пробелы в непрерывном двухполосном СК; масштабные линейки = 0.2 мкм (по Богданову и др. 1997 и Bogdanov et al., 1998).

## Дополнения к главе 14



**Рис. 14.9.** Ультратонкий срез фрагмента ядра сперматоцита домового сверчка *Achaeta domestica*, сфотографированный под электронным микроскопом. Синаптонемный комплекс контактирует с двойной ядерной мембраной через «прикрепительную пластинку», содержащую хроматин. Отчетливо видны центральный элемент СК и расположенные под углом (косо, навстречу один к другому) поперечные филаменты, они же «зубцы застежки молнии». Сюжет близок к фотографии синаптонемного комплекса, представленного в главе 14 на рис. 14.6. На рис 14.6 центральный элемент был срезанным вдоль и сагиттально (по отношению к трёхмерной ленте СК). Для понимания трехмерной структуры СК и плоскостей срезов ленты СК (фронтальной, сагиттальной и др.) можно использовать трехмерную картину из рис 11.2 (гл. 11). Фото и препарат Ю.С. Ченцова и Ю.Ф. Богданова.

# Предметный указатель

- Анафаза 76, 120, 224, 226, 273, 287  
– I мейоза 18–21, 38–40, 42, 75, 99, 110, 114, 115, 122–124, 132, 161, 176, 177, 191, 192, 194, 196, 200–203, 207, 208, 210, 213, 215–222, 224, 225–227, 229, 230, 235, 263, 273  
– II мейоза 18, 40, 110, 114, 115, 132, 207, 208, 216, 218–221, 225, 263
- Аллополиплоиды 117
- Аномалии (нарушения) 34, 72, 105, 118, 121, 130, 131, 133, 134, 141, 195, 339  
– мейоза 14, 25, 57, 67, 89, 90, 121, 125, 127–129, 130–133, 161, 166, 169, 188–190, 195, 220, 234
- Апоптоз 82, 83, 166, 174
- Арабидопсис 26, 61, 66, 89, 117–119, 121, 122, 124–133, 239, 240, 243, 253, 256–258, 260, 262, 271, 295
- Асинапсис 25, 85, 86, 129, 190, 221
- Асинаптические мутанты (асинаптики) 125, 130, 173
- Ахиазматический мейоз **196–206**, 210, 218, 220
- Белок, белки  
– латеральных элементов СК 32, 81, 101, 130, 167, 185, 186, 218, 237, 238, 243–245, 250, 252–253  
– мейоза 43, 246, 257  
– рекомбинации 34, 48, 63, 75, 143, 157, 225, 254, 282, 291, 292  
– синаптонемного комплекса 122, 133, 182, 183, 225, 231, 236, 237, 246, 249–251, 258–260, 262, 296
- Блок мейоза 54, 109, 110, 119, 160, 166, 192, 196  
– пахитенный 56, 83
- «Букет» (стадия букета) 31, 32, 81, 89, 90, 121, 122, 124, 125, 128, 143, 149, 150, 162, 165, 179, 197, 198, 213, 285, 294, 336
- Веретено деления 17, 21, 22, 26, 36–39, 42, 44, 69, 94, 110, 114, 120, 124, 132, 143, 148–150, 152, 174, 176, 182, 188, 190–194, 196, 200, 202–204, 210–213, 215, 218, 220, 221, 222, 224–227, 230, 235, 262, 276, 279, 287, 288, 291
- Вителляриум/Вителлярий 93, 180–182
- Гаплоидные наборы хромосом 17, 25, 207, 219, 222
- Гены 13, 22, 23, 25, 26, 43, 54, 56, 57, 64, 75, 78, 82, 83, 90, 112, 116, 117, 121, 124, 126, 128, 130, 131–134, 154, 155, 195, 208, 240, 252, 285, 286, 288
- Генный (генетический) контроль 39, 294  
– мейоза **112–134**, 288  
– синапсиса 57, 128
- Гермариум/Гермарий 180–184, 187, 199
- Гетеродуплекс ДНК 53, 55, 88, 91, 279
- Гетерохроматин 108, 127, 184, 185, 189, 194, 197, 215, 337  
– гетерохроматические районы 179, 190, 191, 192, 193
- Двунитевые разрывы ДНК (см. также DSBs) 32, 34, 38, 50, 51, 54, 56, 58, 59, 61–63, 89, 126–128, 131, 133, 155, 157, 159, 167, 169, 175, 183, 188, 219, 279, 292, 294, 332
- Деградация (демонтаж) СК 176, 196
- Делеции 25, 48, 154–157, 161, 163, 189, 195, 239, 288
- Десинапсис 114, 191
- Дрожжи (см также *S. cerevisiae* и *S. pombe*) 13, 22, 23, 26, 29, 32, 39, 45–47, 50, 53–55, 57–59, 61, 62, 66, 75, 78, 79, 85, 89, 90, 92, 117, 121, 124, 126, 127, 130–132, 140, **143–158**, 167, 169–172, 174, 176, 178, 187, 188, 190, 194, 231, 232, 236, 238–240, 243–245, 250–253, 256, 258, 260, 261, 263, 264, 271, 273, 279, 287, 289, 291, 293
- Дрозофила см также *Drosophila*) 39, 48–50, 66, 68, 75, 84, 85, 89–91, 93, 94, 104, 105, 152, 167, 169, 172, **179–195**, 199, 236, 239, 240, 243, 244, 252, 256, 257, 260–262, 269, 271, 284, 286–290, 293, 332
- «Застежка–молния» 231, 232, 236, 238, 240, 243, 287, 340
- Зиготена 32–34, 38, 41, 53, 54, 66, 68, 76, 79, 81, 82, 87–90, 97, 113–115, 121, 123–128,

- 143, 162, 163, 165, 171, 175, 180, 183, 184, 197, 200, 204, 205, 206, 213, 234, 336
- Изменчивость белков мейоза **231–245**
- Иммунофлуоресцентная микроскопия/  
Иммунофлуоресценция 120, 121, 127, 130, 136, 153
- Иммуноцитохимия/  
Иммуноцитохимические методы 14, 28, 74, 147, 154, 160, 208, 225, 236, 293
- Инвертированный мейоз 20, 29, **207–230**, 293
- Интерфаза 30, 76, 135, 190, 281  
– интерфаза премеитотическая 30, 32, 96, 119, 120, 122, 147
- Кариосома/кариосфера 92, 96, 102–109, 179, 182, 191
- Кариотип 24, 26, 70, 197
- Кариотипирование 26, 197
- Кинетохор 22, 36, 38, 39, 42, 67, 69–71, 159, 174, 176, 177, 178, 190, 194, 202, 208, 210, 226, 263, 279, 283, 287, 289, 291, 293
- Клеточный цикл 20, 21, 119, 121, 228, 272, 278, 283
- Когезин 21, 32, 36–39, 50, 69, 76, 78, 80, 81, 86, 101, 122, 124, 130, 132, 154, 155, 161, 162, 166, 176, 177, 182, 183, 185, 226, 227, 229, 230, 237, 244, 246–248, 251, 254, 257, 258, 262–275, 278, 283, 285
- Когезиновый комплекс 80, 122, 124, 129, 130, 132, 247, 249, 251, 254, 257, 259, 260, 262–264, 266, 269, 272, 285
- Когезиновая ось 244
- Когезия 21, 38, 122, 132, 161, 262
- Кокциды 176, 207, 209, 220–223, 225, 230
- Конверсия 53, 58, 75
- Консерватизм белков мейоза 43, 178, **231–245**, 251, 254, 292
- Конъюгация хромосом (синапсис) 15, 17, 19, 25, 26, 29, 30, 34, 36–38, 45, 56–58, 76, 80, 82, 83, 85–92, 114–117, 120, 122–134, 151, 152, 154–156, 159, 162, 163, 165–167, 169, 172–174, 177, 179, 183–185, 190, 191, 197, 205, 206, 213, 221, 226, 228, 231, 234, 235, 242, 263, 281, 339
- Кроссинговер 13, 15, 16, 19–21, 24–26, 29, 34, 36–40, 42, 43–75, 76, 82, 83, 88, 89, 92, 127, 143, 153, 158, 159, 163, 166, 169, 170–179, 187–189, 192–198, 206, 215, 225, 228, 230, 231, 234, 235, 241, 256, 261, 278, 282, 283–294
- Кроссоверы 21, 37, 39, 40, 42, 44, 45, 47, 48, 50, 51, 53–68, 127, 145, 152, 158, 169, 170–172, 174, 176, 179, 198, 220, 226–228, 291, 292
- Крыса 78, 138, 141, 232, 240, 260
- Кукуруза 13, 22, 23, 25, 26, 39, 57, 67, 69–71, 79, 89, 112, 115, 117–133, 162, 215, 234
- Курица 84, 99
- Кузнечик 31, 136, 139, 269
- «Ламповые щетки» 87, 96, 97, 98, 102, 105, 106, 295
- Латеральные элементы СК 53, 57, 66, 72, 78, 80, 81, 86, 129, 130, 166, 167, 170, 171, 185, 186, 198, 218, 237, 238, 241–245, 251–253, 258, 287, 292, 339
- Лептотена 30–33, 36, 38, 53, 54, 58, 77, 80–82, 85, 87, 97, 102, 113–115, 119, 121, 122, 124–126, 136, 137, 141–143, 149, 154, 162, 163, 165, 166, 171, 172, 184, 197, 213, 234, 236, 243, 244, 325
- Лилия 22, 33, 49, 79, 88, 89, 135, 294
- Мегаспорогенез/ Мегаспороциты 40, 92, 112, 114, 116
- Мейоз–специфичные белки 21, 82, 112, 161, 246, 254, 259, 294
- Мембрана ядерная 32, 35, 76, 77, 86, 88, 89, 91, 108, 124, 125, 149, 163–165, 184, 221, 233, 250, 281, 294
- Метафаза 18, 79, 120, 208, 281  
– метафаза I 19, 21, 33, 35, 38, 39, 41, 42, 44, 56, 59, 68, 69, 74, 76, 77, 96, 98, 99, 103, 105, 109, 110, 114, 115, 120–123, 128–132, 161, 174, 175, 177, 182, 189, 191, 192, 196, 199–203, 208, 211–216, 219–222, 224–227, 229, 230, 235, 263, 287, 288, 293, 337  
– метафаза II 110, 114, 115, 123, 207, 216, 218, 220, 225, 227  
– метафаза митоза 21, 38, 76–79, 190, 213, 226
- Микроспорогенез/ Микроспороциты 95, 97, 113–116, 118–120, 123, 135,
- Митоз 114, 116, 118, 120, 121, 124, 132–135, 141–146, 149, 161, 176, 177, 180, 183, 190, 196, 202, 208, 213, 217, 219, 222–224, 226–230, 262, 263, 265, 266, 272, 273, 276, 279–281, 285, 291, 294, 333
- Млекопитающие 23, 32, 40, 42, 50, 61, 83, 84, 87, 95, 100, 102, 106, 108–110, 124,

- 132, 135, 137, 138, 142, 169, 188, 190, 231, 232, 236–239, 245, 261, 263, 265, 269, 272, 289
- Мутации генов мейоза 192, 261
- Мутанты 49, 119, 126–133, 144, 152, 153, 155–157, 161, 166, 167, 172, 173, 176, 289, 334, 338
- синаптические 128–131, 169, 187, 234, 239, 261, 339
- Мышь домашняя 23, 49, 85, 137, 138, 232, 233, 238, 248, 249, 250, 251, 253, 256, 264, 268, 271, 274
- Некроссоверы 34, 36, 44, 45, 47, 51, 53–55, 57–61, 65, 66, 127, 145, 170, 172, 179, 220
- Нематода (см также *C. elegans*) 23, 26, 29, 37, 47, 49, 50, 55, 61, 84, 89–91, 110, 127, 130, **159–178**, 183, 187, 195, 202, 203, 210, 231, 232, 236, 238, 240, 244, 245, 247, 252, 253, 257, 260, 268, 271, 274, 286
- Овариолы 93, 94, 180, 181
- Оогенез/оогонии 30, 40, **92–111**, 136, 180–183, 191, 199, 204, 222, 223
- Ооцит 29, 82, 92–111, 141, 159, 160, 162, 174, 180–183, 190, 192, 197–201, 203–206, 336
- нутриментарный тип развития 96, 97, 102, 103, 179
- солитарный тип развития 97, 103
- Пахитена 19, 31, 32, 34, 36, 38, 41, 53, 54, 56, 66, 68, 70, 71, 74, 76, 80–85, 88, 94–97, 100, 104, 105, 113, 115, 123, 127–129, 135, 137, 143, 156, 162, 165, 169, 171–176, 187, 197–199, 201, 202–206, 211, 213, 215, 224, 231, 234, 335
- Пахитенные ядра 78, 80, 102
- Пахитенный арест 56, 83
- Пахитенный бивалент 36, 68, 71, 78, 198
- Полиплоиды 131, 141, 196, 203, 204
- Поликомплексы (СК–подобные поликомплексы) 106, 156, 200, 243, 244
- Половые хромосомы (половой бивалент) 40, 41, 71, 83–86, 91, 193, 196, 224, 227, 288
- Поперечные филаменты СК 185, 238–240, 261, 262, 340
- Процессинг/ Процессирование 33, 34, 60, 64, 87, 126, 165, 167, 172
- Псевдоаутосомный район (PAR) 40, 83, 86
- Пшеница 117, 126, 131, 134
- Рабля конфигурация 30, 32, 149
- Редукционно/ Редукционное деление 20, 22, 29, 39, 69, 92, 97, 99, 132, 161, 176–178, 204, 219, 221, 224, 225, 228, 278, 288, 292
- Рекомбинационные узелки 34, 36, 43, 67–70, 130, 184, 187, 197, 200, 235, 236, 287
- Рекомбинация 13, 15, 16, **43–75**, 125, 126, 128, 145, 149, 152, 153, 156, 157, 171, 174, 178, 194, 228, 238, 278, 281–283, 286, 291, 292, 294, 332
- Ремоделирование хроматина (хромосом) 50, 84, 105, 171, 294
- Реликтовые механизмы мейоза 40, 287
- Репликация ДНК 17, 20, 30, 85, 136, 145, 161, 230, 262, 281, 282
- Рожь 22, 37, 89, 112, 117, 124, 125, 128–130, 133, 134, 140, 240, 334–339
- Сайленсинг 76, 83–85, 102, 103, 108, 119
- Самосборка белков СК 87, 130, 169, 241, 244, 339
- Слепушонки 71
- Сперматогенез 92, 95, 97, 100, 136, 141, 182, 220–222
- Сперматогонии 93, 142, 162, 182, 193, 222
- Сперматоциты 31, 34, 49, 54, 68, 71, 82–85, 92, 93, 95, 98, 159, 160, 162, 182, 192–195, 197–200, 202, 222, 225, 231, 233, 243, 340
- Спорогенные (премейотические) клетки 30, 82, 112, 121, 134
- Стерильность 105, 118, 124, 130, 146
- Субстадии мейоза 30, 34, 36, 37, 81, 149, 197, 198, 202
- Супрессия (хроматина, транскрипции) 50, 76, 157, 293
- Теломера/субтеломера 33, 69, 108, 143, 151, 163, 207, 208, 215, 294
- Тетраваленты 206
- Тли 177, 178, 207, 210, 222, 225, 229,
- Томаты 67, 112, 117, 127
- Транслокация (и) 25, 42, 53, 57, 86, 163, 189, 234
- Тривалент (ы) 205, 206
- Тетраплоиды 132, 204–206, 281, 295
- Триплоиды 116, 196, 204–206, 241
- Униваленты 56, 123, 125, 128, 129, 130, 189, 205, 206, 218, 219, 221, 225
- Фертильность (ый) 14, 20, 117, 133, 144, 245
- Хиазма (–ы) 15, 18–22, 26, 31, 36–40, 42, **43–75**, 92, 93, 95, 96, 98, 100, 114, 129–

- 131, 152, 157, 174–177, 179, 184, 187–190, 194, 196–202, 205, 207, 210, 212–220, 222, 224, 225, 227, 228, 234, 235, 238, 241, 278, 282–284, 287–289, 291, 293, 337
- Холлидея структура 21, 33, 34, 45, 53, 163, 188, 195
- Холоцентрические хромосомы 174, 176, 178, 208, 210, 213, 217–220, 224, 226, 229, 230, 288
- Хомячок китайский 79, 138
- Хромомеры 25, 30, 32, 87, 98, 99, 100, 215, 233, 234
- Центральное пространство СК 36, 63, 167, 168, 200, 201, 236, 238, 240, 243, 251, 261, 262, 292, 293
- Центральный элемент СК 35, 36, 130, 131, 168, 183, 184, 236, 241, 242, 263, 335, 340
- Центромера 18, 71, 72, 85, 115, 149, 150, 174, 177, 189, 193, 207, 208, 210, 213, 216, 224, 226, 229, 230, 276, 278, 283, 289, 291, 293, 294
- Центромерный район 18, 21, 38, 39, 42, 69, 101, 122, 127, 132, 162, 179, 183, 190, 210, 213, 214, 226, 228, 283
- Человек 23, 25, 29, 34, 40, 42, 49, 51, 54, 56, 61, 63, 68, 73, 78, 80, 81, 90, 94, 95, 102, 109, 132, 136, 137, 171, 172, 232, 236, 240, 243, 251, 255, 256, 260, 264, 269, 271, 276, 288
- Червецы 29, 177, 207, 210, 222–224, 229
- Шелкопряд/ *Bombyx mori* 29, 79, 93, 94, **196–206**, 210, 241, 293, 336
- Шугошин 21, 38, 39, 122, 132, 176, 226, 227, 229, 230, 260, 272–278, 283, 291, 294
- Щитовки 29, 177, 207, 210, 229
- Эквационно/ Эквационное деление 123, 132, 177, 207, 213, 217, 219–225, 227–230
- Эндонуклеаза (–ы) 49, 51, 57, 60, 61, 88, 91, 133, 159, 167, 169, 171, 183, 188, 195, 246, 254, 258, 279
- Ядрышко 37, 96, 106, 108, 109, 114, 245

## Указатель основных латинских названий биологических родов и видов

- Achaeta domesticus* 41, 241, 242, 340
- Amoeba proteus* 281
- Ascaris sum* 37, 79, 233
- Bombyx mori* (*B. mori*) (см. также **шелкопряд**) 29, 79, 93, 94, **196–203**, 205, 210, 241, 336
- Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*) (см. также **нематода**) 23, 26, 29, 37, 47, 48, 50, 54–56, 59, 61, 64, 89, 110, 127, 152, 153, **159–178**, 182, 183, 187, 195, 202, 203, 207, 208, 210, 217, 231, 232, 236, 238, 240, 245, 247–250, 253, 256, 264, 268, 271, 274, 294
- Coprinus* (*C. cinereus*) 23, 57, 135, 140
- Danio* (*D. rerio*) 23, 54, 238, 248–250, 253, 258, 264, 268, 274
- Drosophila* (*D. melanogaster*) (см. также **дрозофила**) 23, 39, 48, 54–56, 59, 64, 68, 75, 79, 98, 104, 105, 110, 139, 173, 187, 192, 195, 232, 236, 238, 239, 248–250, 256, 261, 264, 274, 288, 293
- Gallus gallus* (*G. gallus*) (см. также **курица**) 265
- Graphosoma italicum* 224, 225
- Hemiptera–Heteroptera **224–228**
- Homo sapiens* см. **человек**
- Escherichia coli* (*E. coli*) 13, 51, 160, 171
- Laveia bouvari* 221
- Lilium* (см. также **лилия**) 33, 49, 77, 79, 135, 140–142
- Luzula* 209, **211–218**
- Mus musculus* (*M. musculus*) (см. также **мышь**) 23, 49, 85, 137, 138, 238, 248–250, 253, 256, 264, 268, 271, 274
- Orisa sativa* (*O. sativa*) (см. также **рис**) 112, 118, 133, 274
- Planococcus citri* 222, 223
- Puto* (см. также **кокциды**) 220–223, 230
- Rhynchospora* **218–220**
- Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) 23, 26, 29, 32, 34, 39, 45–51, 53–55, 57–59, 61, 64, 66, 68, 75, 79, 85, 90, 117, 126, 127, 140, 143, 145, 149, 152–154, 156–158, 167, 171, 172, 176, 187, 188, 231, 232, 234, 236, 238, 245, 247–250, 253, 255–257,

- 260, 261, 263, 264, 268, 273, 274, 279,  
287, 289, 291–293,  
*Schizosacharomyces pombe* (*S. pombe*) 22, 23,  
26, 29, 47, 48, 50, 54, 55, 57, 59–64, 75,  
85, 121, 127, **143–158**, 172, 173, 178, 194,  
231, 232, 234, 238, 248–250, 256, 258,  
263, 264, 271, 273, 274, 276, 285–288,  
291–294, 332  
*Secale cereale* (*S. cereale*) (см. также рожь)  
37, 77, 112, 124, 140–142, 336–339  
*Sordaria* 23, 286, 289  
*Zea mays* (*Z. mays*) (см. также кукуруза) 23,  
29, 69, 70, 79, 112, 115, 117, 133, 232, 273,  
274

## Указатель биологических таксонов разного ранга выше, чем род

- Acanthocephala, Actinopterygii, Algae,  
Amoebozoa, Amphibia, Annelida,  
Apicomplexa, Basidiomycota, Bryozoa,  
Cephalochordata, Charophyta, Chlorophyta,  
Chondrichthyes, Chordata, Chrysophyta,  
Coelenterata, Coelomata, Cryptophyta,  
Cycliophora, Deuterostomia, Diatomea,  
Dinoflagellata, Echinodermata, Entoprocta,  
Euglenophyta, Euglenozoa, Euphyllophyta,  
Fornicata, Gnathostomulida, Heterolobosea,  
Lycopodiophyta, Mammalia, Мyxosporea,  
Mesozoa, Mollusca, Мyxosporea,  
Myzostomida Nematoda, Nemertea,  
Nematomorpha, Onychophora, Parabasalia,  
Pastrotricha, Pelagophyceae, Perkinsea,  
Placozoa, Porifera, Protostomia, R  
hodophyta, Rotifera, Parabasalia, Rhizaria,  
Scalidophora, Tardigrada, Tunicata,  
Vertebrata, Xanthophyta **247–249**

## Указатель аббревиатур международных названий белков и структур ДНК

- ASY1 32, 129–131, 133, 153, 213, 218, 219,  
225, 237, 245, 253, 258, 260  
dHj (double Hollyday junction) 38, 47, 53, 54,  
56, 64  
DMC1 28, 33, 47, 51, 52, 58, 64, 68, 126–128,  
133, 171, 173, 188, 195, 231, 235, 247,  
250, 251, 255–257, 259, 279, 285, 286, 291  
DSB(s) Double Strand Brake(s) 32, 34, 38,  
50, 51, 54, 58, 59, 61, 62, 63, 89, 126–128,  
131, 133, 155, 183, 188, 279  
MLH1 54–56, 64, 66–68, 71, 74, 127, 133,  
188, 201, 225, 255–259, 279, 291  
PRDM9 61–63  
RAD51 28, 33, 47, 51, 52, 58, 56, 68, 86, 120,  
121, 125–128, 130, 131, 133, 155, 157,  
171, 188, 195, 201, 207, 218, 219, 225,  
231, 235, 240, 241, 243, 247, 255–257,  
259, 279, 286  
SCP1 (SYCP1) 185, 232, 236–239, 241, 243–  
245, 250–253, 260, 261  
SPO11 32, 49–52, 57, 61, 63, 126, 133, 156,  
183, 187, 188, 207, 225, 246, 250, 251,  
254–256, 258, 259, 279, 285, 286, 291  
Zip1/ZYP1 47, 54, 57, 58, 127, 129–131, 153,  
185, 187, 213, 225, 231, 232, 234, 236–240,  
250, 253, 260–262, 285, 287  
ZMM/ ZMM–комплекс 43, 47, 48, 53, 54,  
57–60, 127, 278, 282, 284, 286, 291–293