

УДК 575.116.12:576.3:576.316:576.354.4

МЕЙОЗ: ЧТО НУЖНО ПЕРЕЖИТЬ РАДИ УМЕНЬШЕНИЯ ЧИСЛА ХРОМОСОМ ВДВОЕ*

© 2013 г. А.А. Торгашева

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия,
e-mail: torgasheva@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 7 мая 2012 г. Принята для публикации 28 мая 2012 г.

В течение более ста лет со времени открытия мейоза представления об этом сложном способе деления клеток постоянно изменяются и уточняются. Для его успешного протекания множество процессов, таких, как репликация хромосом, упаковка хроматина, обмен гомологичными участками, выстраивание бивалентов в плоскости деления, расхождение, должно быть точно скоординировано во времени и пространстве. Развитие молекулярно-генетических и иммуноцитохимических методов в последние десятилетия позволило выяснить детали этих процессов и приблизиться к пониманию механизмов их регуляции. В данном обзоре приведены современные представления об основных событиях, происходящих в мейозе, на примерах дрожжей и млекопитающих. Особое внимание уделено процессам синапсиса и рекомбинации хромосом, а также моноориентации кинетохоров сестринских хроматид в первом делении – ключевым особенностям, отличающим мейоз от митоза и обеспечивающим редукцию числа хромосом.

Ключевые слова: мейоз, рекомбинация, синаптонемный комплекс, инактивация половых хромосом, моноориентация кинетохоров, когезия.

МЕЙОЗ – МОДИФИЦИРОВАННАЯ ВЕРСИЯ МИТОЗА. ОСНОВНЫЕ ОТЛИЧИЯ МЕЙОЗА ОТ МИТОЗА

Мейоз – это особый тип клеточного деления, в результате которого образуются клетки, содержащие гаплоидный набор хромосом. Для получения таких клеток необходимо точно и правильно разделить хромосомный набор на две части. Именно это является основной сложностью, с которой связаны отличия мейоза от митотического деления.

Мейоз возник на основе существующего митотического аппарата деления клетки и рекомбинации, которая в том или ином виде существовала, вероятно, со времени появления двуспиральной молекулы ДНК (Богданов, 2008а). Как перед митозом, так и перед мейозом в S-фазе происходит репликация хромосом,

образуются сестринские хроматиды, которые связываются между собой белками-когезинами. В митозе хромосомы выстраиваются в экваториальной плоскости веретена и происходит единственное деление, в результате которого сестринские хроматиды каждой из хромосом расходятся к разным полюсам, при этом гомологичные хромосомы расходятся независимо. В мейозе гомологичные хромосомы (каждая состоит из двух хроматид) объединяются попарно, образуя биваленты, после чего следует два деления. Первое – редукционное, в нем расходятся гомологи. Второе деление – эквационное – подобно митотическому, в нем расходятся сестринские хроматиды (рис. 1).

Основные события, отличающие мейоз от митоза, касаются первого деления, а точнее его самой продолжительной фазы – профазы I. В профазе I выделяют пять последовательных

* Статья написана по материалам публичной лекции, прочитанной в Институте цитологии и генетики СО РАН. Презентация и видеозапись лекции: http://www.bionet.nsc.ru/asp/?paige_id=86.

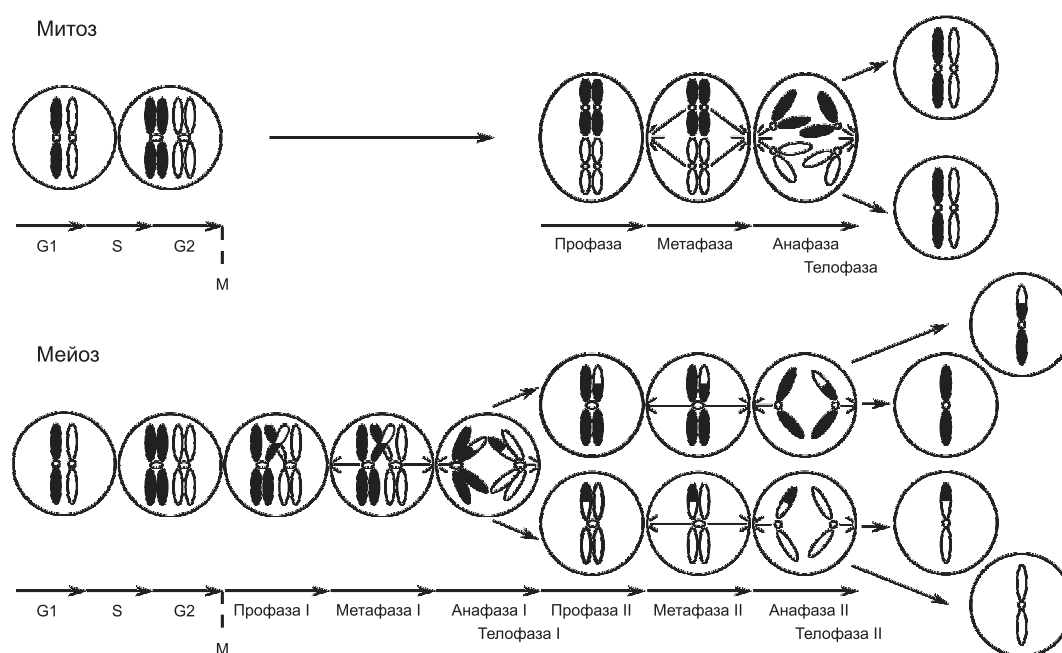


Рис. 1. Последовательность событий в митозе и мейозе (на примере одной пары гомологичных хромосом).

стадий: лептотена, зиготена, пахитена, диплотена и диакинез (рис. 2).

Последующие этапы занимают не более 10% всего времени мейоза. В оставшейся части первого деления различают метафазу I, анафазу I и телофазу I. В метафазе I биваленты выстраиваются в экваториальной плоскости веретена. В анафазе I расходятся гомологичные хромосомы, состоящие из двух хроматид (редукционное деление). Вслед за телофазой I следует короткая интерфаза II (без удвоения хромосом), и клетки приступают ко второму (эквационному) делению: профаза II, метафаза II, анафаза II и телофаза II. Результатом мейоза является образование из каждой диплоидной клетки четырех гаплоидных (рис. 1).

СИНАПТОНЕМНЫЙ КОМПЛЕКС. ОРГАНИЗАЦИЯ ХРОМАТИНА В ПРОФАЗЕ I МЕЙОЗА

Гомологичные хромосомы, каждая из которых состоит из пары сестринских хроматид, объединяются и удерживаются вместе с помощью специфической для мейоза структуры – синаптонемного комплекса (СК) (Богданов, Коломиец, 2007). Вместе с тем СК не только соединяет, но и удерживает гомологичные

хромосомы на расстоянии, необходимом для нормального прохождения рекомбинационных процессов.

Синаптонемный комплекс представляет собой полимерную белковую структуру. Полностью сформированный СК на стадии пахитены состоит из трех частей: двух латеральных (боковых) элементов, образующихся вдоль гомологичных хромосом на стадии лептотены, и соединяющего их центрального элемента (рис. 3).

Хроматин в профазе I мейоза организован в виде петель, основания которых скреплены белками латеральных элементов. Основой для их формирования являются оси хромосом, которые соединяют друг с другом сестринские хроматиды с помощью комплексов белков-когезинов. В состав когезиновых комплексов входят 4 белковые субъединицы, которые, предположительно, образуют кольцо, «обнимающее» (embracing) сестринские хроматиды. По составу мейотические комплексы отличаются от митотических: специфическим для мейоза является когезин REC8, обнаруженный у всех изученных организмов (Revenkova, Jessberger, 2006).

В зиготене латеральные элементы объединяются между собой с помощью поперечных

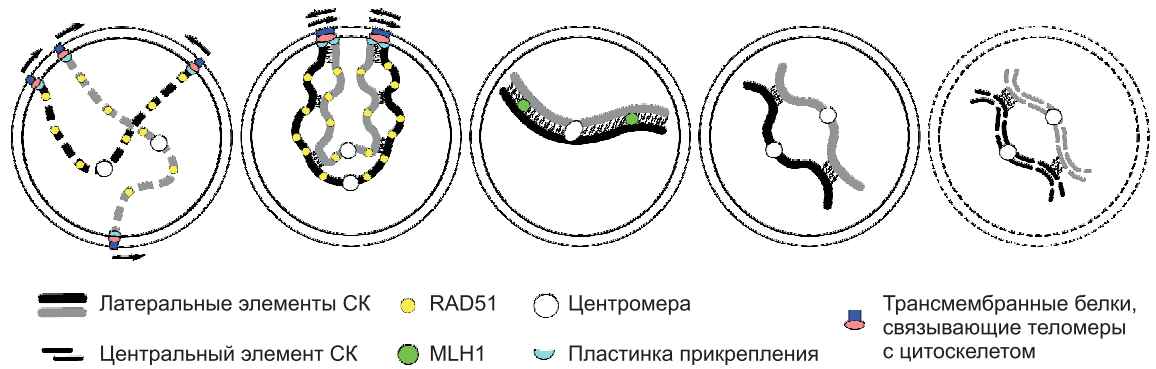


Рис. 2. Стадии профазы I мейоза (на примере одной пары гомологичных хромосом).

На стадии **лептотены** начинают формироваться оси хромосом – будущие латеральные элементы синаптонемного комплекса (СК), в хромосому вносятся множество двуниевых разрывов. В местах разрывов образуются одноцепочечные концы ДНК, с ними связываются белки RAD51, способствующие внедрению этих концов в гомологичные участки несестринской хроматиды. При этом происходит активное движение хромосом, прикрепленных теломерными концами к ядерной мембране. С помощью пластинки прикрепления и трансмембранных белков теломеры связаны с компонентами цитоскелета, направляющими это движение. К концу лептотены – началу зиготены теломерные концы хромосом собираются вместе, формируя структуру «букета». В **зиготене** образуется центральный элемент СК и начинается репарация двуниевых разрывов по кроссоверному или некроссоверному пути с участием комплекса белков мисматч репарации. В образовании кроссоверных продуктов принимает участие белок MLH1. Репарация и формирование СК завершаются в **пахитене**. В **диплотене** и **диакинезе** постепенно разрушаются центральный и латеральные элементы СК, гомологичные хромосомы остаются связанными только в местах рекомбинационного обмена. Начинается подготовка к делению.

филаментов – белков центрального элемента СК, которые полимеризуются вдоль бивалента подобно застежке-молнии (рис. 3). У млекопитающих каждый поперечный филамент состоит из двух белков SCP1. **С-концами они** прикреплены к белкам латерального элемента, а **N-концами связаны между собой**. Размер этих

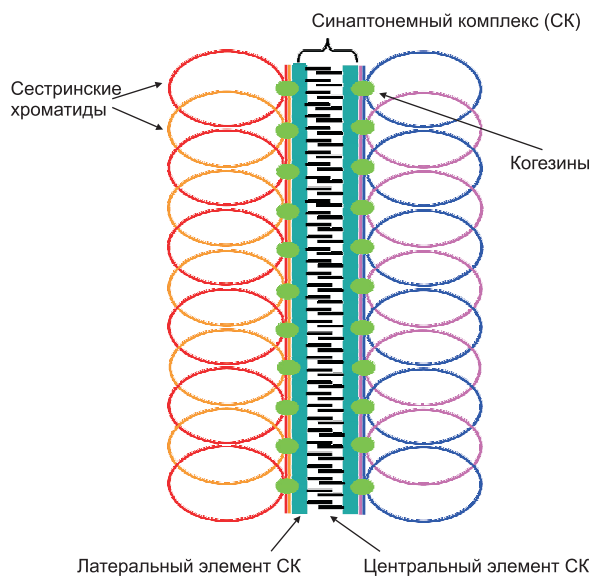


Рис. 3. Схема строения синаптонемного комплекса.

филаментов определяет расстояние между латеральными элементами, которое варьирует от 70 нм у дрожжей и нематод до 150 нм у птиц (Богданов, 2008а).

Синаптонемный комплекс обнаружен в профазе I мейоза у многих сотен видов из всех царств эукариот. Его морфология и функции универсальны для большинства организмов. Удивительно то, что при этом у разных групп эукариот в эволюционно далеких таксонах используются совершенно разные, негомологичные белки. Например, у млекопитающих основными составляющими латеральных элементов являются белки SCP2 и SCP3, негомологичные белкам Hop1 и Red1 дрожжей. Белок центрального элемента млекопитающих SCP1 не гомологичен белку дрожжей Zip1, имеющему сходное строение. Замечательную аналогию приводит Ю.Ф. Богданов. Он сравнивает строение СК в разных таксонах с постройкой домов по единому плану, но из разных материалов. Материал не важен – «важно, чтобы СК выровнял параллельно лежащие гомологичные хромосомы, сохранял между ними пространство, в котором происходит рекомбинация ДНК» (Богданов, 2008б).

ЭТАПЫ СБОРКИ СИНАПТОНЕМНОГО КОМПЛЕКСА. БУКЕТ ХРОМОСОМ

Описанная схема строения характерна для синаптонемного комплекса в пахитене. Сборка же СК осуществляется на стадии лептотены-зиготены параллельно рекомбинационным процессам.

В лептотене начинаются поиск и выравнивание гомологичных участков хромосом. Ранее считалось, что синапсис предшествует рекомбинации. В настоящее время становится ясным, что эти два процесса тесно связаны между собой, по крайней мере для почкующихся дрожжей, млекопитающих и растений. У этих объектов необходимыми условиями синапсиса хромосом являются образование предшественников рекомбинации – двунитевых разрывов ДНК, возникновение и репарация промежуточных рекомбинационных соединений.

Двунитевые разрывы вносятся в ДНК с помощью белка **SPO11 (Santucci-Darmanin, Baudat, 2010)**. У мыши их количество достигает 200–400 на клетку. Эти разрывы образуются не в случайных местах, а там, где происходит активация хроматина и открывается доступ к ДНК. В свою очередь, образование двунитевых разрывов индуцирует глобальное фосфорилирование гистона H2A.X с помощью **ATM/ATR-киназ**, что приводит к подавлению транскрипции.

В местах разрывов образуются одноцепочечные 3'-концы, которые с помощью **RecA-подобных белков** (у эукариот это **RAD51** и **DMC1**) внедряются в неповрежденный гомологичный участок одной из двух **несестринских** хроматид. Именно этот контакт запускает сборку белков центрального элемента СК, они начинают аккумулироваться в местах первичного контакта гомологичных хромосом.

Каким образом гомологичным участкам удастся найти друг друга, остается не до конца понятным. По-видимому, основным механизмом, который способствует поиску, увеличивая вероятность взаимодействий гомологичных участков, является активное движение хромосом, прикрепленных теломерами к ядерной мембране, с последующим формированием структуры «букета» (рис. 2) (Schertan, 2007).

Активное движение характерно для хромосом в ранней профазе I и широко распро-

странено у эукариотических организмов. Хотя специфические механизмы этого процесса у разных организмов различны, во всех случаях происходят энергичные возвратно-поступательные движения (со скоростью до 1 мкм/с для почкующихся дрожжей). Они управляются компонентами цитоскелета, которые связаны с теломерными концами хромосом с помощью белков, пронизывающих ядерную оболочку. Присоединение СК к мембране происходит с помощью пластинки прикрепления, состоящей из теломерных повторов, теломерных белков, субъединиц когезина и белков латеральных элементов. Теломеры двигаются по мембране и к началу зиготены временно собираются на центросомном полюсе ядра, формируя структуру «букета» (рис. 2). Эта эволюционно консервативная структура была впервые обнаружена в начале XX в. и с тех пор описана для множества известных организмов.

Формирование структуры букета играет важную роль в опознавании и выравнивании гомологов, способствуя инициации синапсиса и рекомбинации хромосом. Это происходит за счет ограничения пространства для поиска и увеличения вероятности первичной ассоциации гомологов в околотеломерных участках. Поэтому и формирование СК начинается, как правило, на периферии ядра.

Начало сборки центрального элемента СК определяет начало стадии зиготены. Сначала белки центрального элемента аккумулируются в местах, где найдена гомология на уровне последовательности. Дальнейшая полимеризация может идти уже автоматически, без сверки гомологии. Она заканчивается к началу пахитены, когда четыре хроматиды двух гомологов оказываются тесно связанными между собой (рис. 2).

В пахитене завершаются и рекомбинационные процессы. Рассмотрим, каким образом одновременно с формированием СК гомологичным хромосомам удастся обменяться участками ДНК.

РЕКОМБИНАЦИЯ. ОБМЕН ГОМОЛОГИЧНЫМИ УЧАСТКАМИ

Ключевыми событиями, инициирующими рекомбинацию, являются образование дву-

нитевых разрывов в лептотене и внедрение одноцепочечных 3'-концов в гомологичный участок несестринской хроматиды с помощью RecA-подобных белков. В зиготене и пахитене происходит репарация этих разрывов, в результате которой образуются два типа продуктов: кроссоверные (CO) и некроссоверные (NCO) (Baudat, de Massy, 2007) (рис. 4).

После внедрения в гомологичный участок одноцепочечный конец активной цепи начинает достраиваться (удлиняться) ДНК-полимеразой, использующей в качестве матрицы интактную цепь ДНК несестринской хроматиды. Образующееся при этом промежуточное соединение – D-петля – нестабильно. После достраивания небольшого участка ДНК активная цепь может

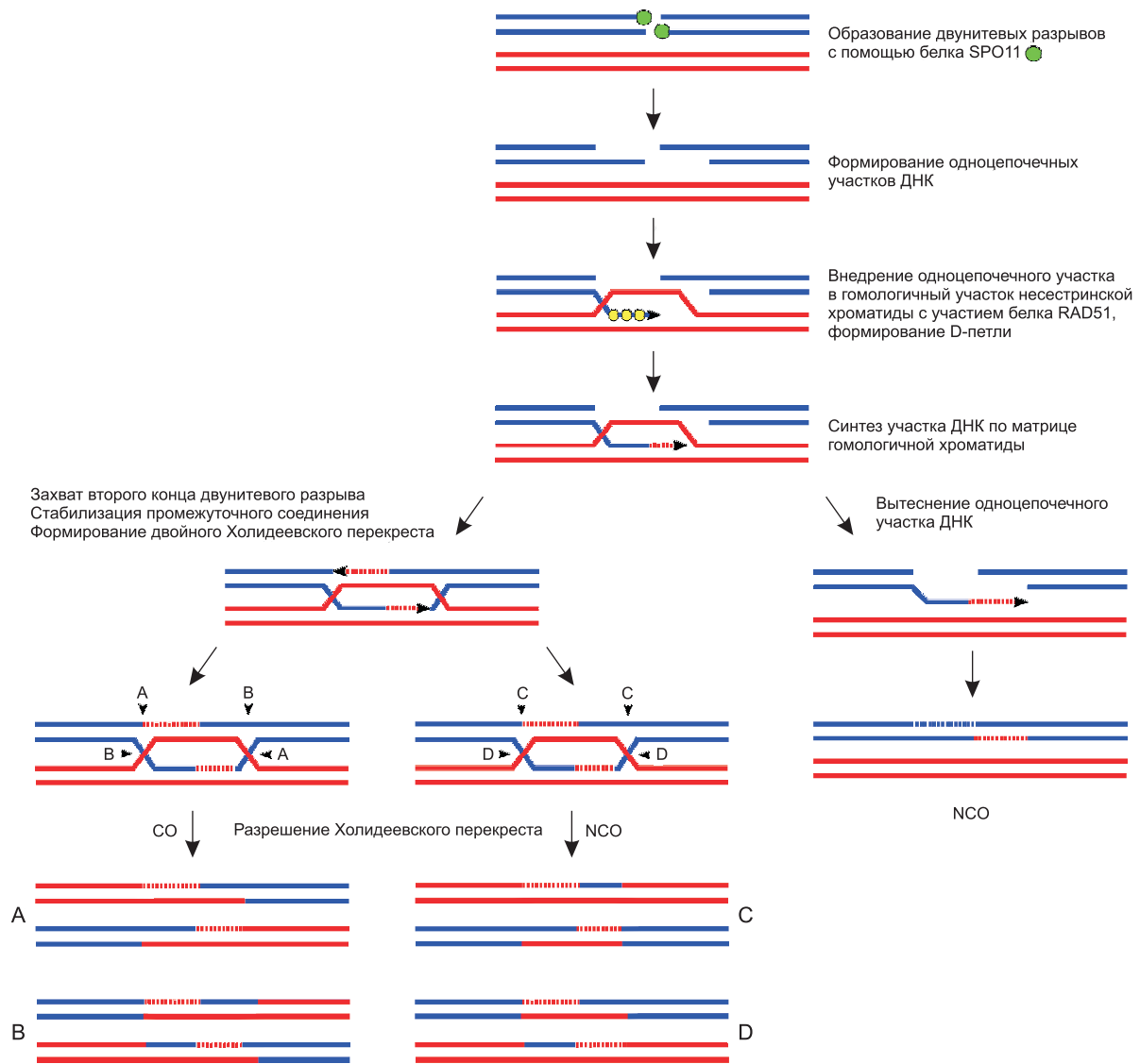


Рис. 4. Схема гомологичной рекомбинации.

Синим и красным цветом показаны цепи ДНК двух несестринских хроматид, участвующих в кроссинговере. Рекомбинация инициируется в местах «горячих точек», где с помощью белка SPO11 образуются двунитевые разрывы. В месте разрыва образуется одноцепочечный конец, с которым связываются белки RAD51, способствуя его внедрению в гомологичный участок несестринской хроматиды. Образуется нестабильное соединение – D-петля. Если оно будет стабилизировано комплексом белков мисматч репарации, произойдет захват второго конца двунитевого разрыва с образованием двойного Холлидеевского перекреста. В зависимости от способа его разрешения могут образовываться как кроссоверные продукты (CO, варианты А и В), так и некроссоверные (NCO, варианты С и D). В противном случае внедренный одноцепочечный конец диссоциирует и образуются некроссоверные продукты.

диссоциировать от несестринской хроматиды и связаться со вторым концом двуцепочечного разрыва. Образуется некроссоверный продукт (NCO) (рис. 4). Если гомологи различаются по этому локусу, то происходит перенос информации с интактной цепи ДНК на активную – генная конверсия.

Промежуточное соединение гомологов может быть стабилизировано комплексом белков мисматч репарации. В этом случае по мере достраивания активной цепи ДНК и расширения D-петли происходит захват другого 3'-конца двуцепочечного разрыва. В результате формируется стабильное соединение – двойная Холидеевская структура (dHj: **double Holliday junction**), которая затем может мигрировать на расстояния до нескольких сотен пар оснований (Santucci-Darmanin, Baudat, 2010).

В пахитене происходит разрешение Холидеевской структуры. В зависимости от того, в какой ориентации будут произведены разрезы, они приведут к образованию кроссоверных или некроссоверных продуктов (рис. 4). Для завершения формирования кроссоверных продуктов необходимо участие белков мисматч репарации MLH1 и MLH3, поэтому MLH1 широко используется в качестве маркера для локализации сайтов рекомбинации на пахитенных хромосомах.

Кроме MLH1-MLH3-зависимого способа образования кроссоверных продуктов, был обнаружен другой путь с участием эндонуклеазы Mus81. Предполагается, что она может принимать участие в образовании CO на ранней стадии репарации после внедрения одноцепочечного конца. С помощью Mus81-пути у дрожжей *Saccharomyces pombe* образуется большинство CO, однако у мышей этот путь, по всей видимости, не играет существенной роли в образовании кроссоверных продуктов. У мышей, нокаутных по гену белка MLH1, уровень рекомбинации снижается в 10–20 раз и сохраняется на уровне 5–10 % от нормы.

У дрожжей *S. cerevisiae* разрешение Холидеевской структуры преимущественно приводит к образованию кроссоверных продуктов. У млекопитающих же происходит более сложная регуляция. Число сайтов локализации белка MSH4 (который соответствует стабильному промежуточному соединению гомологов) существенно

превышает число сайтов локализации белка MLH1 (т. е. сайтов рекомбинации). Их распределение вдоль хромосомы, как и распределение сайтов MLH1, неслучайно и неравномерно.

РЕГУЛЯЦИЯ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ РЕКОМБИНАЦИОННЫХ ОБМЕНОВ. ИНТЕРФЕРЕНЦИЯ

Если о механизмах рекомбинации известно довольно много, то о том, как регулируется распределение точек рекомбинации и сайтов инициации синапсиса, не известно практически ничего (хотя в теориях о том, как оно должно регулироваться, недостатка нет). Число сайтов рекомбинации может превышать число двунитевых разрывов в 10–20 раз. У мыши число сайтов локализации белка RAD51, выявляемого в местах двунитевых разрывов, может составлять от 200 до 400, а число сайтов рекомбинации варьирует в пределах 22–28. При этом как сайты рекомбинации, так и двунитевые разрывы распределены по хромосоме неравномерно и неслучайно.

Положение двунитевых разрывов определяется локализацией «горячих точек» – участков длиной 1–2 тыс. п.н. с высокой рекомбинационной активностью, окруженных участками с низкой частотой рекомбинации протяженностью несколько десятков тысяч пар оснований (Paigen, Petkov, 2010). Их активность зависит от состояния хроматина и находится под контролем гена *PRDM9*, продукт которого модифицирует гистон H3K4.

Однако каким образом происходит выбор способа репарации двунитевого разрыва – кроссоверного или некроссоверного пути – остается неясным. Отчасти этот процесс регулируется на хромосомном уровне. Это подтверждается тем, что для большинства изученных организмов характерны общие особенности распределения сайтов рекомбинации вдоль хромосомы. К ним относятся выраженный околотеломный пик (сильнее проявляется у самцов), снижение рекомбинации в околотеломных районах. Свой вклад в неравномерность распределения обменов по хромосомам вносит интерференция – снижение вероятности образования обмена вблизи уже возникшего.

Высокая частота рекомбинации в околотеломном районе (теломерный пик), по-види-

тому, обусловлена сближением теломерных концов гомологичных хромосом в процессе формирования структуры «букета». Это облегчает поиск гомологичных участков, что необходимо для инициации как синапсиса, так и рекомбинации.

Эффект подавления рекомбинации в центромерном районе («центромерный эффект») изначально связывали с конденсированным статусом центромерного гетерохроматина. Полученные позже данные указывают на то, что должны быть и другие механизмы супрессии. В частности, у дрожжей клонированная центромера, искусственно перенесенная в другое место генома и не ассоциированная с гетерохроматином, все равно проявляла «центромерный эффект». В недавнем исследовании было показано, что в подавлении центромерной рекомбинации принимают участие механизмы РНК-интерференции.

Сложнее всего оказалось объяснить эффект кроссоверной интерференции. Этим эффектом описывается распределение множественных обменов (более одного на хромосому). Вероятность возникновения второго рекомбинационного обмена увеличивается по мере увеличения расстояния от первого. Несмотря на то что было предложено несколько моделей этого явления, механизмы, обеспечивающие проявление интерференции, неизвестны (Berchowitz, Copenhaver, 2010).

Современные модели интерференции предполагают наличие интерференционного сигнала, который распространяется от первичного сайта рекомбинации в обоих направлениях и предотвращает возникновение дополнительного кроссинговера. В разных моделях роль такого сигнала отводится либо механическим силам, действующим вдоль оси бивалента, либо предполагаемому, неизвестному, фактору, который полимеризуется вдоль оси.

ПАХИТЕННЫЙ КОНТРОЛЬ. РЕПАРАЦИЯ ДВУНИТЕВЫХ РАЗРЫВОВ В X- И Y-ХРОМОСОМАХ

Репарация двунитевых разрывов и образование кроссоверов завершаются в пахитене. При этом гомологи полностью спарены, центральный элемент СК сформирован на протяжении всех бивалентов. На этой стадии происходит

разрешение Холидеевских структур. По мере репарации фосфорилированный гистон H2A.X исчезает с аутосом, и их транскрипционная активность восстанавливается.

Но что будет, если гомологичный участок не найден и спариться не удастся? В таких неспаренных участках хромосом репарация остается незавершенной. И асинапсис сам по себе, и наличие в асинаптических районах нерепарированных повреждений ДНК представляют на этой стадии серьезную опасность, поскольку они могут привести к нарушению транскрипции, неправильному расхождению хромосом и образованию анеуплоидных гамет.

Эти нарушения синапсиса и репарации активируют процесс пахитенного контроля (**checkpoint**). **Запуск этого процесса приводит к подавлению транскрипции в неспаренном участке – мейотическому сайленсингу неспаренного хроматина (MSUC: meiotic silencing of unsynapsed chromatin).** Одним из ключевых этапов этого механизма является вторая волна фосфорилирования гистона H2A.X с помощью **ATM/ATR киназ (Burgoyne et al., 2009).**

Есть, однако, одна пара хромосом, для которой синапсис и рекомбинация неизбежно должны вызывать проблемы. Это **X- и Y-хромосомы самцов**. Как правило, они синаптируют и рекомбинируют в небольшом псевдоаутосомном районе. Остальные участки половых хромосом не имеют гомологичного партнера для спаривания, поэтому в пахитене они подвергаются транскрипционной инактивации (**MSCI: meiotic sex chromosome inactivation**) (Turner, 2007). Эта инактивация происходит благодаря второй волне фосфорилирования H2A.X и является частным случаем общего механизма инактивации неспаренных участков – MSUC. Фосфорилирование начинается вблизи оси, а затем распространяется и полностью покрывает половые хромосомы, приводя к образованию полового тельца (XY body) с более конденсированным, транскрипционно неактивным хроматином.

Тем не менее двунитевые разрывы в неспаренных участках половых хромосом должны быть репарированы. Каким образом это происходит, остается неясным. Теоретически возможны два способа: с помощью гомологичной рекомбинации с использованием сестринской хроматиды или с помощью типа репарации, при

котором происходит прямое сшивание концов разрыва без использования гомологичного образца (NHEJ: **non-homologous end joining**).

Оба эти пути запрещены в ранней профазе, и двунитевые разрывы в неспаренных участках на стадии пахитены остаются нерепарированными. Это подтверждается тем, что множественные сайты связывания с RAD51 наблюдаются в неспаренном плече X-хромосомы вплоть до середины пахитены. Интересно, что на неспаренном участке Y-хромосомы сайты RAD51 в пахитене встречаются крайне редко. Остается неясным, что является причиной этого – низкая активность белка SPO11 на этом участке, формирующего двунитевые разрывы на Y-хромосоме, или их более быстрая репарация по сравнению с X-хромосомой. Из-за наличия большого числа повторов в Y хромосоме такая репарация может осуществляться посредством внутривнутрихромосомной рекомбинации в зиготене параллельно репарации (гомологичной рекомбинации) в аутосомах (Schoenmakers, Baarends, 2011).

К середине диплотены рекомбинационные белки и фосфорилированный гистон H2A.X исчезают с полового тельца, указывая на то, что двунитевые разрывы репарированы. Вероятно, к этому времени отменяется запрет на репарацию по матрице сестринской хроматиды. Возможно, активируется и механизм прямого сшивания концов разрыва – NHEJ.

В отличие от неспаренных районов половых хромосом в псевдоаутосомном районе двунитевые разрывы репарируются одновременно или даже немного раньше, чем в аутосомах. Сайты связывания RAD51 не встречаются в этом районе в пахитене, и один обязательный кроссовер формируется немного раньше, чем в среднем в аутосомах.

РАСХОЖДЕНИЕ ХРОМОСОМ. МОНООРИЕНТАЦИЯ ЦЕНТРОМЕР В ПЕРВОМ ДЕЛЕНИИ

Когда все двунитевые разрывы репарированы и Холидеевские структуры разрешены, клетка начинает готовиться к делению. В диплотене СК разрушается. Гомологичные хромосомы отделяются друг от друга и только в районе хиазм сохраняют физический контакт между собой (рис. 2). Благодаря тому, что в местах располо-

жения хиазм ДНК хроматиды одного гомолога соединена с ДНК несестринской хроматиды и когезии сестринских хроматид, бивалент существует как единая структура. Другими словами, для сохранения бивалента нужны и кроссинговер, и когезиновые связи сестринских хроматид. Если в биваленте произошел один кроссинговер, то бивалент имеет вид креста, если два, то вид кольца или ряда колец при наличии более двух хиазм (рис. 5).

В диакинезе хромосомы бивалента значительно укорочены, позиции кроссинговера выявляются в виде хиазм. Прекращается синтез РНК, хромосомы конденсируются и утолщаются. На этой стадии можно увидеть, что каждый бивалент содержит четыре отдельные хроматиды, причем каждая пара сестринских хроматид соединена центромерой, тогда как несестринские хроматиды, претерпевшие кроссинговер, образуют хиазмы. Эта стадия является переходной к стадии деления клетки.

В метафазе I мейоза, как и в митозе, хромосомы выстраиваются в экваториальной плоскости веретена деления и затем в анафазе расходятся к разным полюсам. Для правильного расхождения хромосом в митозе требуется, чтобы кинетохоры сестринских хроматид в метафазе были биориентированы, т. е. были присоединены к микротрубочкам противоположных концов веретена деления. В этом случае сестринские кинетохоры испытывают натяжение, которое уравнивается когезией сестринских хроматид. Когда эти условия выполняются, активируется фермент сепараза, которая расщепляет когезины и запускает расхождение сестринских хроматид.

В отличие от митоза в первом делении мейоза к разным полюсам расходятся не сестринские хроматиды, а гомологичные хромосомы, удерживаемые вместе с помощью хиазм. Такое поведение достигается благодаря двум специфическим для мейоза особенностям (Tanaka, Watanabe, 2008).

Во-первых, кинетохоры сестринских хроматид присоединены к микротрубочкам, исходящим от одного полюса веретена деления, т. е. моноориентированы (рис. 6).

Во-вторых, расщепление когезинов происходит в два этапа. В первом делении мейоза расщепляются когезины хромосомных плеч. Связь между гомологичными хромосомами

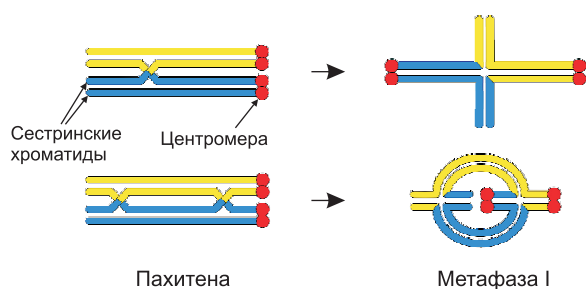


Рис. 5. Синаптические конфигурации бивалентов с одним и двумя рекомбинационными обменами в пахитене и метафазе I.

теряется и они расходятся. Однако сестринские хроматиды продолжают быть связанными друг с другом благодаря тому, что когезия между ними сохраняется в перичентромерном районе вплоть до второго деления.

В мейозе одна из субъединиц когезинового комплекса заменена на специфический для мейоза когезин REC8. Оказалось, что от действия сепаразы в перичентромерном районе его защищает белок шугошин (Sgo1, японск. – дух-хранитель) (Clift, Marston, 2011) (рис. 6). Если в мейозе вместо REC8 индуцировать экспрессию его митотического аналога, то когезия между

сестринскими хроматидами будет полностью разрушена в метафазе-анафазе мейоза I. При этом у дрожжей белок семейства шугошинов ответственен и за монополярную ориентацию кинетохоров.

После завершения первого деления мейоза клетки без удвоения ДНК вступают во второе деление, проходящее по схеме классического митоза. Как только устанавливается правильное биополярное присоединение микротрубочек к кинетохорам сестринских хроматид и на центромерах генерируется натяжение, запускается второй этап расщепления когезинов – расщепляется когезин REC8 в перичентромерном районе. Сестринские хроматиды расходятся к противоположным полюсам.

ОСОБЕННОСТИ МЕЙОЗА В ООГЕНЕЗЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ. ПОВЫШЕНИЕ РИСКА ОБРАЗОВАНИЯ АНЕУПЛОИДНЫХ ГАМЕТ С ВОЗРАСТОМ

Процесс образования половых клеток, основным событием которого является мейоз, существенно различается у самок и самцов.

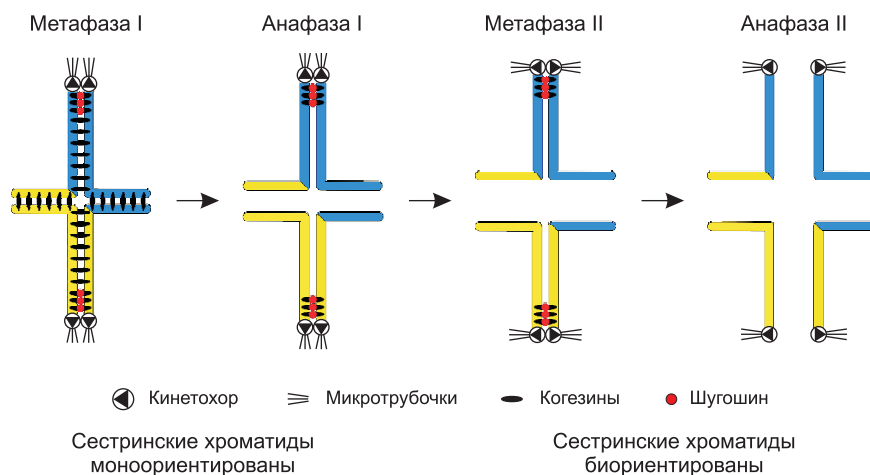


Рис. 6. Схема расхождения хромосом в мейозе.

До анафазы I сестринские хроматиды связаны вместе с помощью когезиновых комплексов. Благодаря им и рекомбинационному обмену все четыре хроматиды объединены в бивалент. В анафазе I расщепляются когезины хромосомных плеч, позволяя гомологичным хромосомам разойтись к разным полюсам. В перичентромерном районе когезины защищены от расщепления белком шугошином. При этом кинетохоры обеих сестринских хроматид моноориентированы – присоединены к одному полюсу веретена деления. Благодаря этому сестринские хроматиды расходятся вместе. В метафазе II кинетохоры сестринских хроматид присоединены к разным полюсам веретена деления – биориентированы. Шугошин инактивируется, и расщепляются когезины перичентромерного района, позволяя сестринским хроматидам разойтись к разным полюсам.

Одно из важнейших отличий касается продолжительности и распределения мейотических событий во времени.

У самцов сперматогенез начинается при достижении половой зрелости и может продолжаться всю жизнь. При этом весь процесс образования сперматозоидов занимает у мыши 35 дней, у человека – 64, из них на мейоз приходится 13 и 24 дня соответственно.

В отличие от самцов у самок оогенез начинается в период эмбрионального развития и останавливается на стадии профазы I (у человека и многих других млекопитающих – в диплотене). К моменту рождения в яичниках самок уже содержатся все ооциты, из которых впоследствии будут развиваться яйцеклетки. Дальнейшее развитие ооцитов происходит уже после полового созревания. В каждом эстральном цикле половые гормоны стимулируют завершение первого (редукционного) деления одного из ооцитов. После этого клетка сразу же вступает во второе деление. Затем еще одна остановка происходит на стадии метафазы II. **Завершается** второе мейотическое деление только в случае оплодотворения.

Таким образом, в состоянии покоя на стадии диплотены ооцит человека может находиться от 10 до 50 лет. Такая длительная задержка приводит к тому, что с возрастом увеличивается риск образования гамет с хромосомными нарушениями. Действительно, если с возрастом мужчины повышается частота точечных мутаций в сперматоцитах (поскольку вступлению в мейоз предшествует большое число клеточных делений), то большинство хромосомных аномалий имеют материнское происхождение. Риск этих нарушений увеличивается до 35 % к 40 годам и, как правило, связан с неправильным расхождением хромосом в первом делении мейоза (Wang *et al.*, 2011).

Среди возможных причин этого эффекта рассматриваются ошибки рекомбинации, нарушения сборки веретена деления и присоединения к нему кинетохоров. Однако главной причиной повышения риска образования анеуплоидных гамет считается преждевременная потеря когезии между сестринскими хроматидами. На стадии диплотены гомологичные хромосомы физически связаны между собой благодаря

тому, что несестринские хроматиды, между которыми произошел рекомбинационный обмен, остаются связанными с сестринскими хроматидами с помощью **REC8-содержащих** когезиновых комплексов.

В исследованиях на мышах было показано, что когезиновые комплексы образуются **только** в S-фазе, **функционируют на протяжении всего** мейоза и не заменяются новыми. При этом с возрастом их количество уменьшается. К 12 месяцам у мышей количество когезина REC8 может сокращаться на 90 %. Интересно, что до этого времени сохраняется низкий уровень хромосомных нарушений, однако он резко возрастает уже к 15 месяцам. Вероятно, изначально с хромосомами связывается избыточное количество когезинов, и риск возникновения анеуплоидных гамет серьезно повышается только после падения уровня **REC8 ниже критической** границы (Chiang *et al.*, 2012).

К серьезным последствиям может привести нарушение когезии в перичентромерном районе, поскольку он ответственен за правильное присоединение кинетохоров к веретену деления. Ошибки их ориентации приводят к неправильной сегрегации хромосом. У мыши частота таких ошибок, приводящих к разъединению центромер, увеличивается с возрастом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большинство данных, приведенных в обзоре, получено при изучении млекопитающих и дрожжей. Однако механизмы регуляции сложного каскада событий, происходящих в мейозе, их последовательность и взаимосвязь могут очень сильно различаться у разных групп организмов. В некоторых случаях компонент или механизм, который является ключевым для одного организма, оказывается не таким значимым или вовсе ненужным для другого. Так, например, самцы дрозофилы обходятся без синаптонемного комплекса и рекомбинации. У нематод и самок дрозофилы формирование двунитевых разрывов и синапсис хромосом могут происходить независимо друг от друга. В регуляции и координации мейотических событий у разных видов могут участвовать разные компоненты сигнальных систем.

СЛОВАРЬ

Синаптонемный комплекс – белковая полимерная структура, пространственно организующая гомологичные хромосомы в профазе I мейоза. Состоит из двух боковых (латеральных) элементов и соединяющего их центрального.

Когезиновые комплексы – белковые комплексы, связывающие сестринские хроматиды после репликации в S-фазе как в митозе, так и в мейозе. Состоят из четырех субъединиц. Участвуют в регуляции расхождения сестринских хроматид.

Гомологичная рекомбинация – обмен гомологичными участками хромосом в профазе I мейоза. Затрагивает две несестринские хроматиды бивалента.

Двунитевые разрывы ДНК – множественные повреждения ДНК в лептотене, запускающие процесс гомологичной рекомбинации. Индуцируются белком SPO11.

Двойная Холидеевская структура (dHj: double Holliday junction) – стабильное промежуточное соединение ДНК несестринских хроматид, образующееся в процессе рекомбинации.

Мисматч репарация – система исправления ошибочных спариваний нуклеотидов, возникающих в процессе репликации и рекомбинации ДНК, а также в результате некоторых типов повреждений ДНК.

Интерференция – снижение вероятности возникновения рекомбинационного обмена вблизи уже возникшего.

Пахитенный контроль (checkpoint) – система, контролирующая завершение процессов синапсиса и рекомбинации в пахитене.

Инактивация половых хромосом – процесс подавления транскрипционной активности неспаренных участков половых хромосом в профазе I мейоза у гетерогаметного пола.

Кинетохоры – белковая структура в центромерном районе хромосомы, к которой прикрепляются волокна веретена деления. Играет важную роль в сегрегации хромосом.

Сепараза – протеаза, ответственная за расщепление когезинов в метафазе митоза и мейоза.

Шугошин – белок, защищающий когезины в перицентромерной области. В мейозе регулирует поэтапное расщепление когезинов.

ЛИТЕРАТУРА

- Богданов Ю.Ф. Эволюция мейоза одноклеточных и многоклеточных эукариот. Ароморфоз на клеточном уровне // Журн. общ. биологии. 2008а. Т. 29. С. 102–107.
- Богданов Ю.Ф. Белковые механизмы мейоза // Природа. 2008б. Т. С. 3–9.
- Богданов Ю.Ф., Коломиец О.Л. Синаптонемный комплекс – индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом. М.: КМК, 2007. 358 с.
- Baudat F., de Massy B. Regulating double-stranded DNA break repair towards crossover or non-crossover during mammalian meiosis // Chromosome Res. 2007. V. 15. P. 565–577.
- Berchowitz L.E., Copenhaver G.P. Genetic interference: don't stand so close to me // Curr. Genomics. 2010. V. 11. P. 91–102.
- Burgoyne P.S., Mahadevaiah S.K., Turner J.M. The consequences of asynapsis for mammalian meiosis // Nature Rev. Genetics. 2009. V. 10. P. 207–216.
- Chiang T., Schultz R.M., Lampson M.A. Meiotic origins of maternal age-related aneuploidy // Biol. Reprod. 2012. V. 86. P. 1–7.
- Clift D., Marston A.L. The role of shugoshin in meiotic chromosome segregation // Cytogenet. and Genome Res. 2011. V. 133. P. 234–242.
- Paigen K., Petkov P. Mammalian recombination hot spots: properties, control and evolution // Nature Rev. Genetics. 2010. V. 11. P. 221–233.
- Revenkova E., Jessberger R. Shaping meiotic prophase chromosomes: cohesins and synaptonemal complex proteins // Chromosoma. 2006. V. 115. P. 235–240.
- Santucci-Darmanin S., Baudat F. Meiotic Recombination in Mammals / Eds M.-H. Verlhac, A. Villeneuve. Oogenesis: John Wiley and Sons, Ltd, 2010. P. 141–177.
- Scherthan H. Telomere attachment and clustering during meiosis // Cell Mol. Life Sci. 2007. V. 64. P. 117–124.
- Schoenmakers S., Baarends W. Meiotic Pairing of Homologous Chromosomes and Silencing of Heterologous Regions // Epigenetics and Human Reproduction / Eds S. Rousseaux, S. Khochbin. Berlin; Heidelberg: Springer, 2011. P. 157–186.
- Tanaka K., Watanabe Y. Sister Chromatid Cohesion and Centromere Organization in Meiosis // Recombination and Meiosis / Eds R. Egel, D.-H. Lankenau. Berlin; Heidelberg: Springer, 2008. P. 57–79.
- Turner J.M. Meiotic sex chromosome inactivation // Development. 2007. V. 134. P. 1823–1831.
- Wang Z.B., Schatten H., Sun Q.Y. Why is chromosome segregation error in oocytes increased with maternal aging? // Physiology (Bethesda). 2011. V. 26. P. 314–325.

Источники в интернете

Видеомодель гомологичной рекомбинации у прокариот:
<http://bioweb.wku.edu/courses/biol22000/16Recombination/RecDS.html>
Видеомодель альтернативного разрешения Холлидеевской структуры:
<http://engels.genetics.wisc.edu/Holliday/holliday3D.html>

MEIOSIS: HOW TO HALVE THE CHROMOSOME NUMBER**A.A. Torgasheva**

Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: torgasheva@bionet.nsc.ru

Summary

The notion of meiosis has been changed and refined for over a century since the discovery of this complicated way of cell division. Its success depends on precise time and space orchestration of many processes, such as chromosome replication, packaging, exchange of homologous regions, alignment in the plane of division, and disjunction. The development of molecular and immunocytochemical methods in recent decades cast light on the details of these processes and brought scientists closer to the understanding of mechanisms regulating them. This review presents the current notion of the major meiotic events by examples of yeast and mammals. Particular attention is paid to processes underlying chromosome synapsis and recombination, as well as monoorientation of sister kinetochores in the first division, the key features distinguishing meiosis from mitosis and ensuring chromosome number reduction.

Key words: meiosis, recombination, synaptonemal complex, sex chromosome inactivation, kinetochore monoorientation, cohesion.