



Томский государственный университет

ЭВОЛЮЦИОННАЯ БИОЛОГИЯ

Том 2

*Материалы II Международной конференции
«Проблема вида и видообразование»
г. Томск, 24–26 октября 2001 г.*

Томск 2002

РЕКОМБИНАЦИОННЫЕ ПАРАМЕТРЫ ХРОМОСОМ: МАКРО- И МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ

Л.В. Высоцкая

Новосибирский государственный университет

630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

E-mail: vysot@fen.nsu.ru

Изучение хромосомных наборов различных организмов ведется уже более ста лет, однако мы все еще далеки от понимания того, какие причины определяют формирование групп сцепления, число хромосом, их размеры и морфологию.

Попытки обнаружить смысл сцепления генов в механизмах регуляции транскрипции к особому успеху не привели. С этой целью, как правило, анализируют соматические клетки, где на передний план выступает транскрипционная активность хроматина. Но транскрипция – не единственная функция хромосом. Если вспомнить о кариотипических изменениях, сопровождающих диминуцию хроматина в соматических клетках нематод, циклопов, некоторых насекомых и происходящих при формировании макронуклеуса у инфузорий, то станет понятно, что анализировать необходимо, в первую очередь, хромосомы клеток зародышевого пути. Причины сцепления, по-видимому, следует искать в организации процессов сегрегации и рекомбинации. Именно эти процессы обеспечиваются хромосомами клеток зародышевого пути и являются основным источником генетической изменчивости у высших организмов – комбинативной.

Подавляющая доля комбинативной, или рекомбинационной, изменчивости обеспечивается случайной сегрегацией негомологичных хромосом при редукционном делении мейоза, внутривидовой рекомбинацией, или кроссинговером, и кроссбридингом. В настоящем сообщении речь пойдет о параметрах хромосом, которые обеспечивают первую и вторую составляющие рекомбинационной изменчивости.

Связь между числом хромосом и рекомбинационной изменчивостью очевидна: количество комбинаций хромосом определяется их гаплоидным числом n и для конкретной особи составляет 2^n . С учетом внутривидового разнообразия аллелей количество возможных рекомбинантных генотипов в популяции возрастает до невероятных значений. Реализующаяся в эволюции тенденция к уменьшению числа хромосом в кариотипе приводит к снижению

той составляющей рекомбинационной изменчивости, которая связана со случайной комбинаторикой негомологичных хромосом.

Что касается корреляции размеров и морфологии хромосом, с одной стороны, и частотой рекомбинационных обменов гомологов, с другой, то здесь до недавнего времени имелись разноречивые данные. Так, на разных объектах при изучении влияния перестроек было обнаружено, что перемещение района хромосомы относительно центромеры в результате инверсии или транслокации иногда вызывает уменьшение частоты кроссинговера, иногда – увеличение, а иногда не оказывает никакого влияния [1, 2].

Противоречивость этих данных стала понятной, когда удалось сопоставить частоту кроссинговера с положением генетических маркеров на хромосоме [3, 4]. Оказалось, что рекомбинационные обмены распределяются по длине бивалентов неравномерно.

К сожалению, генетический анализ, показавший более высокую частоту рекомбинационных обменов в дистальных районах хромосом по сравнению с проксимальными, не позволил получить детальную картину распределения обменов по длине хромосом и тем более у многих видов. Это оказалось возможным сделать только с использованием цитологических подходов, анализируя расположение хиазм по длине бивалентов в поздней профазе I мейоза. Правомочность использования хиазм для оценки рекомбинационных обменов была доказана во многих экспериментах [5–7]. Цитологический анализ позволяет не только оценить их частоту и распределение, но и установить, с какого района хромосомы начинается синاپсис гомологов, распространяется он на всю длину бивалента или нет, как быстро происходит, другими словами, понять, как складывается тот или иной тип распределения хиазм.

Следует подчеркнуть, что только цитологический анализ дает возможность получить интегральную оценку рекомбинационных параметров хромосом. Учитывая, что кариотип эволюционирует как единое целое, для сравнительно-эволюционного анализа необходимо пользоваться именно интегральными оценками.

Распределение рекомбинационных обменов различно для одноплечих и двухплечих хромосом и зависит от длины плеча

Результаты анализа распределения рекомбинационных обменов у человека [8], мыши [9], многих видов саранчовых [10–14] и других объектов свидетельствуют о том, что число хиазм и их распределение зависят от длины хромосомы и от того, является она одноплечей или двухплечей.

Если бивалент формирует больше одной хиазмы, то между физической и генетической длинами хромосом наблюдается соответствие (рис. 1). Оно отсутствует в случае самых коротких хромосом, образующих одну хиазму и имеющих длину меньше, чем интерференционное расстояние [15].

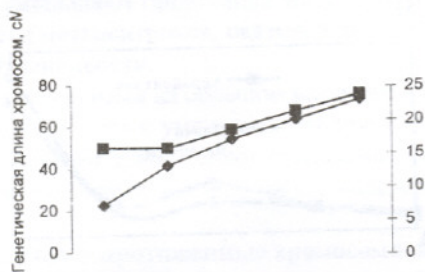


Рис. 1. Сравнение физической и генетической длины хромосом мыши [9]

С увеличением длины хромосомы распределение обменов меняется закономерным образом (рис. 2).

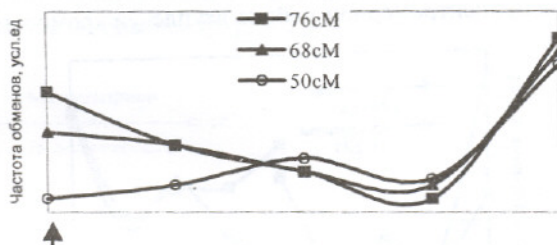


Рис. 2. Распределение рекомбинационных обменов по длине акроцентрической хромосомы в зависимости от ее генетической длины. Стрелкой указано положение центromеры

Можно говорить о существовании надмолекулярного (хромосомного) механизма (позиционного контроля) числа и распределения рекомбинационных обменов. Районы хромосом, расположенные в одинаковой позиции от центromерного района в акроцентриках (или плечах метацентриков) одина-

ковой рекомбинационной длины, будут обмениваться с одной и той же частотой независимо от вида организма [9, 16].

Распределение обменов в плечах метацентриков и в акроцентрических хромосомах более или менее одинаково для коротких хромосом, формирующих один обмен (рис. 3).

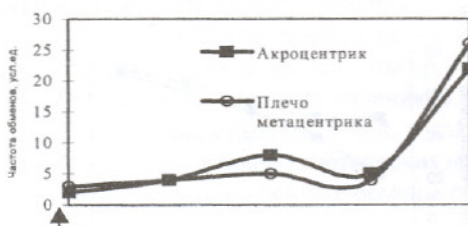


Рис. 3. Распределение единственного обмена по длине акроцентрика и плеча метацентрика

В случае большего числа обменов их распределение значительно отличается (рис. 4). При этом в плечах метацентриков обменов реализуется гораздо меньше, чем в акроцентриках такой же физической длины. Это продемонстрировано при сравнении числа и распределения хиазм как у близких по длине акроцентриков и плеч метацентриков (см. рис. 4), так и непосредственно у акроцентриков и образовавшегося при их центрическом слиянии метацентрика [17–18]. Причем меньшее число хиазм связано со снижением частоты их образования в прицентромерном районе двуплечей хромосомы.



Рис. 4. Распределение рекомбинационных обменов в плечах метацентрика и в акроцентриках такой же физической длины

Таким образом, если двуплечая хромосома возникает в результате объединения коротких акроцентриков, то сокращение комбинативной изменчивости будет происходить только за счет уменьшения гаплоидного числа хромосом. Если же объединяются длинные хромосомы, то будет наблюдаться и

только в проксимальном районе. Из последнего можно сделать вывод о том, что тип синапсиса δ возник при модификации типа ε .

Каждому варианту синапсиса соответствует свой тип распределения рекомбинационных обменов (рис. 6).

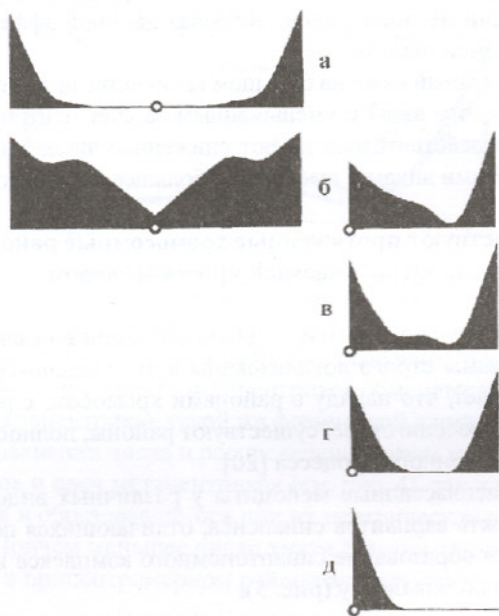


Рис. 6. Типы распределения рекомбинационных обменов, соответствующие вариантам синапсиса гомологичных хромосом (см. рис. 5)

В случае вариантов a , ε и δ из рекомбинации исключаются довольно протяженные районы хромосом, внутри которых существует абсолютное сцепление генетических локусов. Такие группы генов было предложено называть супергенами [21].

Локализация супергенов принципиально различается в акроцентрических и метацентрических хромосомах: в метацентриках — это проксимальные районы, в акроцентриках — дистальные, или срединные, районы хромосом.

Анализируя данные о распределении локализованных обменов у других видов организмов, можно прийти к выводу, что подобные варианты синапсиса довольно часто встречаются как у животных, так и у растений.

Следует отметить, что варианты синапсиса, при которых из рекомбинации исключается значительный район, встречаются в длинных и средних по размеру хромосомах, но не в коротких.

**В ходе эволюции происходят уменьшение
комбинативной изменчивости, формирование
и последующее увеличение размеров групп
тесно сцепленных локусов**

Выше упоминалось, что центрические слияния приводят к снижению комбинативной изменчивости как за счет уменьшения числа хромосом, так и в результате более редких рекомбинационных событий в прицентромерной области метацентриков.

Однако у многих видов с одинаковым числом хромосом и хромосомных плеч число хиазм также может отличаться. Мы определили среднее число хиазм у нескольких десятков видов саранчовых разной степени филогенетической близости [19]. Сопоставление полученных данных с эволюционным положением видов показало, что в ходе эволюции семейства настоящих саранчовых происходит уменьшение частоты кроссинговера. Оно объясняется появлением районов хромосом с ограниченной частотой рекомбинации или полным ее отсутствием.

Интересной для анализа оказалась группа видов трибы *Bryodemini*, в которой наблюдается минимально возможное для одиннадцати пар бивалентов число хиазм — около одиннадцати. В восьми крупных бивалентах всегда образуется проксимальная хиазма (рис. 6, д), и, кроме того, на некоторых бивалентах с невысокой частотой дистальная хиазма (рис. 7, в). Количество бивалентов с дистальной хиазмой у разных видов может различаться (таблица).

**Наличие дистальной хиазмы в длинных и средних бивалентах
у 7 видов трибы *Bryodemini***

Вид	Биваленты, формирующие дистальную хиазму			Группа
	1, 2	3, 4	5-8	
<i>Bryodema orientale</i>	+ -	--	+	I
<i>B. gebleri</i>	+ -	--	+	
<i>B. holdereri</i>	+ -	--	+	
<i>B. luctuosum</i>	++	--	++	II
<i>B. heptapotamicum</i>	+ -	+ -	++	III
<i>B. tuberculatum</i>	+ -	+ -	++	
<i>Angaracris barabensis</i>	++	++	++++	

Не вызывает сомнения, что направление эволюции видов этой трибы совпадает с уменьшением числа хромосом, формирующих дистальные хиазмы. Таким образом, возникшие в ходе эволюции районы хромосом, выключенные из рекомбинации, в последующем увеличиваются в размерах.

Неравномерность распределения обменов по длине хромосом и появление районов, не участвующих в кроссинговере, свидетельствует о том, что происходит упорядочение рекомбинационного процесса. Следствием этого является разделение генома на две подсистемы: случайно рекомбинирующую и стабильную, содержащую крупные блоки полностью сцепленных локусов. Другими словами, рекомбинация является эволюционирующим признаком и меняется в направлении от случайной к более упорядоченной.

В зависимости от места расположения на хромосоме те или иные гены участвуют в кроссинговере с определенной частотой. Если в результате хромосомных перестроек гены попадают в другую позицию, то в одном случае они станут рекомбинировать с более высокой частотой, в другом – с более низкой, в третьем – вообще будут выключены из рекомбинации. Очевидно, что степень участия в рекомбинационном процессе может иметь различную адаптивную ценность, и это служит механизмом, контролирующим распространение и закрепление хромосомных перестроек.

Можно предполагать, что локализация супергенов в дистальных или интерстициальных районах одноплечих хромосом может служить ограничением на вступление хромосом в центрические слияния. Косвенным доказательством этому предположению является обнаруженное нами в длинных акроцентриках двух видов саранчовых рода *Chorthippus* распределение хиазм, характерное для плеч метацентрических хромосом. Следует подчеркнуть, что у всех других представителей рода число хромосом уменьшено за счет центрических слияний длинных акроцентриков. Этот факт мы рассматриваем как свидетельство того, что формирование в акроцентрике типа распределения рекомбинационных обменов, характерного для плеча метацентрической хромосомы, предопределяет вступление этого акроцентрика в центрическое слияние [14].

Генетическое содержание районов хромосом с ограниченной рекомбинацией остается пока неясным...

Дифференциация хромосом в отношении к синапсису и рекомбинации

Анализ распределения рекомбинационных обменов, проведенный на многих видах саранчовых [10] и мыши [9], продемонстрировал, что часто все

хромосомы кариотипа ведут себя одинаково в отношении синапсиса и рекомбинации, а различия в распределении хиазм связаны только с длиной хромосом. Это может свидетельствовать о том, что рекомбинационные параметры хромосом определяются внутриклеточными механизмами, общими для всех хромосом.

Однако существуют виды, у которых синапсис начинается в различных районах разных пар хромосом, и рекомбинационные обмены в бивалентах распределяются принципиально отличным образом. Так, в кариотипах видов саранчовых трибы *Chrysochraontini* имеются длинные двуплечие, а также короткие и средние по размерам одноплечие хромосомы. В метацентриках и коротких акроцентриках синапсис начинается с дистальных районов, а средних размеров акроцентрики синаптируют и с дистального, и с проксимального районов [12].

У видов трибы *Bryodemini* все хромосомы в наборе акроцентрические, однако мы столкнулись с тем, что спаривание различных хромосом происходит с разных районов: первая–восьмая и десятая пары начинают синаптировать с проксимального района, в то время как спаривание девятой и одиннадцатой пар начинается в дистальном районе хромосомы. Синапсис в первом–восьмом бивалентах распространяется не далее чем на треть длины бивалента, и рекомбинационный обмен происходит в проксимальном районе хромосомы. Десятый бивалент короткий, он синаптирует полностью, но формирует только один обмен, который может располагаться в любом районе хромосомы (рис. 7).

Интересно отметить, что в близкой к *Bryodemini* трибе *Oedopodini* также имеется один вид, *Celes skalozubovi*, у которого наблюдается точно такой же характер синапсиса гомологов и распределения рекомбинационных обменов. У второго вида рода *C. variabilis* мы обнаружили уникальное явление: значительные внутривидовые различия в распределении обменов. Одни особи

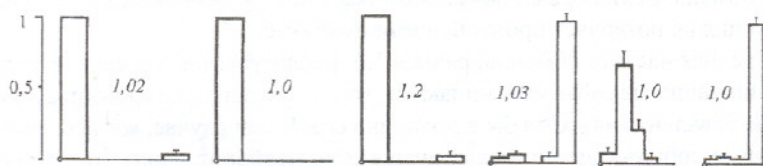


Рис. 7. Распределение рекомбинационных обменов в бивалентах у *Bryodemina tuberculatum*. По вертикали отложена частота обменов, по горизонтали – позиция на хромосоме. Одинаковые по размерам и распределению обменов хромосомы объединены. Указаны доверительные интервалы и среднее число обменов на бивалент

демонстрировали распределения, сходные с теми, которые наблюдаются у *C. skalozubovi*, другие – распределения, типичные для бивалентов с полным синапсисом, начинающимся в дистальном районе. Необходимо подчеркнуть, что сильнее всего вариабельности подвержены биваленты 1–8, т.е. те, которые демонстрируют отсутствие синапсиса и рекомбинации в дистальном и интерстициальном районах хромосом. Можно предполагать, что вариабельность параметров синапсиса и рекомбинации, наблюдаемая у *C. variabilis*, отражает промежуточное положение трибы *Oedipodini* на пути становления механизмов ограничения рекомбинации и формирования супергенов.

Внутривидовая изменчивость частоты рекомбинации может быть объяснена изменением временных параметров синапсиса и рекомбинации

За исключением *C. variabilis* мы не встретили случаев, когда в пределах вида наблюдалось бы разнообразие характера синапсиса гомологов. Однако незначительные вариации в числе хиазм и их распределении встречаются. Как правило, в случае увеличения суммарного для клетки числа хиазм не происходит изменения интерференционных расстояний. Обмены в однообменных и двухобменных бивалентах располагаются точно так же, но увеличивается доля клеток с двухобменными бивалентами. Распределение рекомбинационных обменов по длине хромосомы при этом изменится.

Рассмотрим следующий пример. На рис. 8 изображено распределение рекомбинационных обменов для бивалента, в котором их средняя частота равна 1,5, т.е. в половине клеток бивалент формирует две хиазмы, в половине – одну. Отдельные кривые распределения обменов для двухобменных и однообменных бивалентов помогают понять, что если первый обмен произошел в дистальном районе бивалента, то велика вероятность реализации второго обмена. Если первый обмен возникает посередине бивалента, то интерференция не позволяет произойти второму обмену.

Средняя частота обменов, равная 1,5, реализуется в том случае, если рекомбинационные события начинаются, когда синапсис уже произошел по всей длине бивалента или хотя бы в половине его. В том случае, когда рекомбинационные события начинаются раньше или, наоборот, запаздывает процесс нормального спаривания гомологов, первый обмен может возникнуть только в дистальном районе бивалента, и тогда в обязательном порядке произойдет второй обмен, т.е. все биваленты станут двухобменными.

Из рис. 9 видно, что общее увеличение рекомбинации приводит к перераспределению обменов, и в результате генетические расстояния между ге-

нами, находящимися на одинаковом расстоянии друг от друга, но в различных местах хромосомы, изменятся или в сторону увеличения, или в сторону уменьшения.

Таким образом, изменение времени рекомбинационных событий относительно времени спаривания гомологичных хромосом может влиять на частоту обменов в различных районах хромосом по-разному, в одних – уменьшая, а в других – увеличивая частоту рекомбинации. В свете этих данных получают объяснение многочисленные случаи как увеличения, так и уменьшения частоты кроссинговера под влиянием различных факторов (температура, освещенность, пол, возраст, наличие добавочных хромосом и др.).

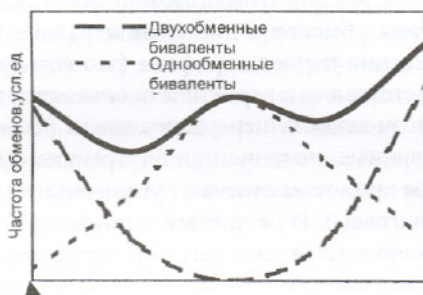


Рис. 8. Распределение рекомбинационных обменов по длине акроцентрика (суммарное и отдельно для одно- и двухобменных бивалентов). Генетическая длина 75 сМ



Рис. 9. Изменение распределения рекомбинационных обменов при увеличении их суммарного числа

Частота кроссинговера между генами может меняться и без увеличения числа обменов на хромосому, а только в результате изменения их распределения [16].

У видов с локализованными обменами изменения в их частоте и распределении очень заметны. Так, у саранчового *B. holdereri* было обнаружено незначительное увеличение суммарной частоты обменов в присутствии добавочных хромосом (11,49 по сравнению с 11,24). Самое интересное заключалось в том, что это увеличение было связано с возрастанием частоты обменов в единственном районе: дистальной области первого бивалента [23]. Следовательно, в присутствии В-хромосом у этого вида увеличивается частота появления рекомбинантов вполне определенного спектра.

Механизм такого клеточного ответа можно легко объяснить, допустив, что увеличение частоты обменов в дистальном районе первого бивалента происходит при удлинении периода профазы (это возможно в присутствии В-хромосом), а соответственно и вероятности синапсиса этого района.

Таким образом, возможность перераспределять рекомбинационные обмены в ответ на различные внешние или внутренние факторы приводит к тому, что одни районы хромосом отвечают увеличением, другие – уменьшением частоты кроссинговера. В результате в потомстве данного организма увеличивается или уменьшается доля рекомбинантов определенного типа.

Заключение

Рекомбинационная изменчивость более или менее случайна в той части, в которой она обеспечивается сегрегацией негомологичных хромосом и кроссбридингом. Уменьшение числа хромосом в гаплоидном наборе может снижать рекомбинационную изменчивость.

Что касается кроссинговера, то это далеко не случайный процесс. Более того, процесс, эволюционирующий в направлении от случайного к более упорядоченному. В ходе эволюции формируются группы генов, сцепление которых нарушается редко или не нарушается совсем. Размеры этих групп могут со временем увеличиваться.

Неравномерность распределения рекомбинационных обменов по длине хромосомы зависит от интерференционного расстояния, длины хромосомы, положения центромеры, участков иницирования синапсиса гомологов и протяженности района хромосомы, который он затрагивает. Наконец, на распределение обменов влияют временные параметры процессов синапсиса и рекомбинации.

Вариации относительного времени спаривания гомологов и рекомбинационных событий создают предпосылки для увеличения частоты кроссинго-

вера в одних районах хромосом и уменьшения в других. Такая возможность используется организмами для создания определенного спектра рекомбинантов в ответ на действие различных внешних или внутренних факторов.

Несомненно, что степень участия в рекомбинационных обменах контролируется отбором, поэтому не каждая возникшая хромосомная перестройка может закрепиться. Таким образом, рекомбинационные параметры хромосом могут накладывать ограничения на одни перестройки и предопределять другие.

Размеры хромосом, которые, как показано в [16], меняются не случайно, также, по-видимому, контролируются через оценку их рекомбинационной способности.

При наличии трех и более обменов на плечо увеличивается вероятность более или менее равного участия каждого района хромосомы в кроссинговере и, следовательно, исчезает возможность регуляции рекомбинационного процесса. Возможно, именно поэтому так широко распространены виды, у которых реализуется 1–2 обмена на плечо. Уменьшение длины коротких хромосом, по-видимому, сдерживается у тех видов, которые не имеют специального механизма сохранения бивалентов в отсутствие кроссинговера, так как увеличивается вероятность возникновения унивалентов.

Все сказанное выше свидетельствует о важной, а возможно, и главенствующей роли рекомбинационных параметров хромосом в эволюционных преобразованиях карิโอ типов.

Литература

1. Beadle G.W. A possible influence of the spindle fibre on crossingover in *Drosophila* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1932. Vol. 18. P. 160–165.
2. Rhoades M.M. Studies on the cytological basis of crossing over // Replication and recombination of genetic material. Canberra: Austral. Acad. Sci., 1968. P. 229–241.
3. Dobzhansky Th. Cytological map of the X-chromosome of *Drosophila melanogaster* // Biol. Zentr.-Bl. 1932. Bd. 52. S. 493–509.
4. McClintock B. Mutation in maize // Carnegie Inst. Wash. Year Book. 1952. Vol. 52. P. 227–237.
5. Tease C., Jones G.H. Analysis of exchanges in differential stained meiotic chromosomes of *Locusta migratoria* after BrdU-sustitution and FPG staining. I. Crossover exchanges in monochiasmate bivalents // Chromosoma. 1978. Vol. 69. P. 163–178.
6. Kanda N., Kato H. Analysis of crossing over in mouse meiotic cells by BrdU labelling technique // Chromosoma. 1980. Vol. 78. P. 113–121.
7. Горлов И.П., Агульник А.И., Агульник С.И. Определение положения генов на хромосомах доменной мыши посредством сравнения генетической карты и картины распределения хиазм // Генетика. 1987. Т. 23. С. 63–70.
8. Hulten M. Chiasma distribution at diplotene in the normal human male // Hereditas. 1974. Vol. 76. P. 55–78.
9. Горлов И.П. Анализ рекомбинации у эукариот: общие закономерности. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Новосибирск, 1993. 35 с.

10. Henderson S.A. Chiasma distribution at diplotene in a locust. *Heredity*. 1963. Vol. 18. P. 173–190.
11. Fox D.P. The control of chiasma distribution in the locust *Schistocerca gregaria* (Forsk.) // *Chromosoma*. 1973. Vol. 43. P. 289–328.
12. Высоцкая Л.В., Агапова О.А., Гусаченко А.М. Особенности образования синаптонемных комплексов и распределения хиазм у двух видов саранчовых // *Генетика*. 1990. Т. 26. С. 1953–1959.
13. Высоцкая Л.В., Агапова О.А., Олимова Д.Ч. Распределение хиазм и синапсис хромосом у видов саранчовых подсемейства Oedipodinae // *Генетика*. 1995. Т. 31. С. 471–476.
14. Гусаченко А.М., Агапова О.А., Высоцкая Л.В. Рекомбинационные параметры некоторых 23-хромосомных видов саранчовых // *Генетика*. 1994. Т. 30. С. 801–805.
15. Darlington C.D. The control of the chromosome by genotype and its bearing on some evolutionary problems // *Amer. Natur.* 1932. Vol. 66. P. 25–51.
16. Горлова О.Ю. Комбинативные эффекты вариации морфологии хромосом (на примере карิโอ-типов пауков, млекопитающих и некоторых видов насекомых): Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск, 1999. 17 с.
17. John V., Freeman M. Causes and consequences of Robertsonian exchange // *Chromosoma*. 1975. Vol. 52. P. 123–134.
18. Горлов И.П. Анализ распределений хиазм у мышей по 2-й и 6-й хромосомам, вовлеченным в робертсоновские слияния // *Генетика*. 1988. Т. 24. С. 641–647.
19. Высоцкая Л.В., Бугров А.Г., Стебаев И.В. // *Журн. общей биол.* 1983. Т. 34. С. 480–490.
20. White M.J.D. An extreme form of chiasma localization in a species of *Bryodema* (Orthoptera, Acrididae) // *Evolution*. 1954. Vol. 8. P. 350–358.
21. Darlington C.D., Mather K. *The elements of genetics*. L.: Allen and Unwin. 1949. 446 p.
22. Высоцкая Л.В., Агапова О.А., Бугров А.Г. и др. Эволюционное разнообразие и рекомбинационные параметры настоящих саранчовых // *Сиб. экол. журн.* 1997. Т. 3. С. 335–340.
23. Высоцкая Л.В. Неслучайное изменение частоты хиазм в присутствии В-хромосом у *Bryodema holdereri* (Orthoptera, Oedipodinae) // *Генетика*. 1986. Т. 22. С. 2272–2275.