

УДК 575.18:576.316.353.74:599

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА У МЛЕКОПИТАЮЩИХ, УТРАТИВШИХ Y-ХРОМОСОМУ

© 2019 г. И. Ю. Баклушинская^{1, *}, А. С. Богданов¹, А. С. Микаелян¹,
В. Г. Тамбовцева¹, С. Н. Матвеевский²

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
119334 Москва, ул. Вавилова, 26, Россия

²Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
119991 Москва, ул. Губкина, 3, Россия

*E-mail: i.bakloushinskaya@idbras.ru

Поступила в редакцию 06.09.2018 г.

После доработки 21.02.2019 г.

Принята к публикации 17.04.2019 г.

Генетическая детерминация пола обеспечивается сложными каскадами экспрессии генов. У млекопитающих пол определяется генами, точная временная и пространственная регуляция которых приводит к формированию семенников или яичников из бипотенциальных эмбриональных гонад. Генетические программы развития по женскому или мужскому пути не являются абсолютно разными, значительная часть генов вовлечена в оба пути. Считается, что первичным фактором, определяющим формирование семенников у плацентарных, является ген *Sry* (*Sex-determining Region Y*). В двух группах грызунов – у четырех видов слепушонок *Ellobius* и двух видов колючехвостых мышей *Tokudaia* – Y-хромосома и ген *Sry* отсутствуют. У всех видов *Ellobius* и *Tokudaia* нарушена структура консервативного района энхансера гена *Sox9*. Для видов слепушонок, утративших Y-хромосому, показано, что в геноме самцов и самок сохранилось несколько генов, обычно локализованных на ней, в том числе ген фактора сперматогонияльной пролиферации *Eif2s3у*. У видов слепушонок с двумя X-хромосомами у особей обоих полов морфологическая идентичность половых хромосом маскирует функциональный гетероморфизм, который удается выявить только в мейозе. Существование у слепушонок *Ellobius* и колючехвостых мышей *Tokudaia* самцов и самок при отсутствии *Sry* и возможном нарушении экспрессии гена *Sox9* до сих пор не получило объяснения. Наличие гонад смешанного типа (ovotestes) или отдельных аномалий, обнаруженных у ряда групп млекопитающих, убеждает в том, что существуют разные пути развития событий в раннем онтогенезе. Известны плацентарные млекопитающие (например, некоторые виды семейства кротовых Talpidae), у самок которых в норме формируются гонады смешанного типа, т.е. яичники, окруженные тестикулярной структурой. При этом самки имеют половые хромосомы XX и, соответственно, не имеют гена *Sry*. У самцов этих видов (половые хромосомы XY; показано наличие гена *Sry*) формируются характерные для млекопитающих семенники. Предполагается, что образование ovotestes у кротовых может быть связано с изменениями сигнального пути *Wnt4*, ключевого для дифференцировки по женскому пути. К настоящему времени, несмотря на очевидный прогресс в изучении генетических механизмов детерминации пола, остается неясным, насколько изменчивыми могут быть каскад генов, вовлеченных в этот процесс, и система регуляции их экспрессии. Исследование видов с различными исключениями в структуре генома (XX или XO у самок и самцов, полная или частичная потеря Y-хромосомы), а также в строении гонад может оказаться ключевым для понимания эволюции генетических механизмов детерминации пола.

DOI: 10.1134/S0044459619040031

16–20 октября 2017 года в Государственном Дарвиновском музее прошла III международная конференция “Современные проблемы биологической эволюции”, приуроченная к 130-летию со дня рождения Н.И. Вавилова и 110-летию со дня основания Государственного Дарвиновского музея. В работе конференции приняли участие 189 специалистов из России, США, Монголии, Украины и Белоруссии. Было представлено 12 пленарных, 92 устных и 45 стендовых докладов. В рамках конференции работали секции “Вид и видообразование”, “Внутривидовая дифференциация и адаптация”, “Эволюционная генетика”, “Эволюционная морфология и палеонтология”, “Эволюция онтогенеза”, “Эволюция поведения”, “Эволюция сообществ, эволюционная биогеография”, “История эволюционных исследований”, “Популяризация науки и музейное дело”; были проведены круглые столы “К 130-летию Н.И. Вавилова”, “Экспериментальная эволюция”, “Обыкновенная бурозубка в фокусе хромосомной эволюции”, “Теоретические аспекты эволюционной биологии”. В данном выпуске Журнала общей биологии представлены избранные статьи, написанные по материалам обсуждавшихся на конференции исследований.

Эволюционное значение полового размножения остается предметом дискуссий. Его понимание затруднено существованием разнообразных форм полового размножения наряду с примерами полного отсутствия этого процесса у некоторых групп организмов (Cavalli-Sforza, Bodmer, 1978; Kondrashov, 1988; Попадьин, 2003). Например, бделлоидные коловратки *Vdelloidea* характеризуются тем, что у них в жизненном цикле не обнаружен мейоз, не выявлены самцы или гермафродиты, т.е. данная группа животных размножается исключительно бесполом путем (Welch, Meselson, 2000). У ветвистоусых ракообразных *Daphnia magna* помимо партеногенеза описан аутомиксис — явление, при котором происходит слияние половых клеток одной и той же особи (Svendsen et al., 2015). Наряду с подобными исключениями, существует значительное разнообразие типов детерминации пола, включая генетический тип определения, при котором фактор детерминации пола локализуется на половых хромосомах, гапло-диплоидию, элиминацию одного из родительских геномов, развитие в зависимости от факторов внешней среды и другие (Bachtrog et al., 2014; Смирнов, Трухина, 2016). Это открывает широкие перспективы для эволюционных исследований. Детерминация пола — процесс с точным временным и пространственным расписанием активации и контроля экспрессии генов в раннем эмбриональном развитии, поэтому нарушения регуляции, связанные с мутациями энхансеров, могут быть столь же значимы, как и изменения структурных генов (Li et al., 2016). У самок и самцов каскады, обеспечивающие формирование гонад, включают большое количество одних и тех же генов; выбор пути развития может определяться взаимодействием и регуляцией экспрессии ключевых генов по типу обратной связи (Capel, 2017). Несмотря на значительный прогресс в изучении механизмов детерминации пола, достигнутый благодаря совершенствованию методов молекулярной биологии, исследование регуляции экспрессии определяющих пол генов находится лишь в начальной стадии (Abbott et al., 2017). Наиболее интересной проблемой является определение первичного гена-переключателя и роли прочих генов каскада детерминации пола.

ОСОБЕННОСТИ ДЕТЕРМИНАЦИИ ПОЛА У ПЛАЦЕНТАРНЫХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

У большинства плацентарных млекопитающих первичным пол-определяющим фактором является “testis-determining factor” (TDF), а именно ген *Sry*, локализованный на Y-хромосоме (Sex-determining Region Y) (Gubbay et al., 1990; Sinclair et al., 1990; Koopman et al., 1991). При его отсутствии происходит формирование яичников, а в случае транслокации гена *Sry* на X-хромосому у особей с генотипом XX наблюдается развитие семенников

(McElreavey, Cortes, 2001). Роль гена *Sry* как первичного переключателя состоит в активации экспрессии гена *Sox9* (SRY-box 9), строго определенный уровень продукта которого, в свою очередь, регулирует экспрессию других генов мужского пути развития, таких как *Fgf9* (fibroblast growth factor 9) и *Fgfr2* (fibroblast growth factor receptor 2). *Fgf9* и *Fgfr2* в норме блокируют экспрессию гена *Wnt4* (*Wnt* family member 4) у самцов. В случае нарушения регуляции *Fgf9* фактор *Wnt4* блокирует экспрессию гена *Sox9*, что приводит к активации генов β -catenin, *Foxl2* (forkhead box L2) и других генов женского пути развития. Длительное время превалировало представление о том, что развитие по женскому пути запрограммировано “по умолчанию”, а специфический мужской фактор (такой как TDF) необходим для подавления начала развития по женскому пути (Wilhelm et al., 2007). Последующие многочисленные исследования показали, что это представление не соответствует действительности, процесс формирования гонад значительно более сложен (Windley, Wilhelm, 2015; Capel, 2017). Известно, что изменения в первичном половом валике у самок мышей становятся заметны позже, чем у самцов; в то время как у самцов формирование семенников контролируется одним каскадом генов через регуляцию экспрессии *Sox9*, для самок описано по меньшей мере два пути подавления экспрессии этого гена (Biason-Lauber, Chaboissier, 2015). Интенсивное изучение процессов, связанных с формированием гонад у самок, выявило существенную роль гена *Rspo1* (R-spondin 1) (Parma et al., 2006). В целом развитие гонад как у самцов, так и у самок контролируется сложным взаимодействием регуляторных факторов. Получены также данные об эпигенетической регуляции их экспрессии (Nishino et al., 2004; Kuroki et al., 2013; Garcia-Moreno et al., 2018). Известно, что у мышей ген *Sry* окружен большими инвертированными повторами (Gubbay et al., 1992), которые формируют транскрипционно инертный гетерохроматин, характеризующийся высокой степенью метилирования гистона H3K9 (Nishibuchi, DeJardin, 2017). Недавно было установлено, что уровень метилирования, необходимый для корректирования экспрессии гена *Sry*, тонко настраивается при взаимодействии деметилазы *Jmjd1a* и метилтрансферазы *GLP/G9a* гистона H3K9 (Kuroki et al., 2017).

БИПОТЕНЦИАЛЬНОСТЬ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ГОНАД И ВОЗМОЖНОСТЬ ТРАНСФОРМАЦИИ ГОНАД У ПОЛОВОЗРЕЛЫХ ОСОБЕЙ

Одной из парадоксальных особенностей постнатального развития плацентарных млекопитающих является возможность трансформации гонад у взрослых особей, что подразумевает необходи-

мость пожизненного контроля уровня экспрессии ключевых генов детерминации пола. Известно, что эмбриональные гонады бипотенциальны и состоят из клеток разного типа, таких как первичные половые клетки и соматические клетки-предшественники стероидогенных и поддерживающих клеток. У плацентарных млекопитающих первое морфологическое событие дифференцировки семенников, а значит, и детерминации пола — это миграция мезенхимальных и эндотелиальных клеток из мезонефроса в половой валик; затем происходит дифференцировка клеток Сертоли, от количества которых зависит органогенез семенника, включая дифференцировку клеток Лейдига, продуцирующих тестостерон; завершается процесс развитием специфической сосудистой системы (Merchant-Larios, Taketo, 1991; Burgoyne, Palmer, 1993). У самок при формировании яичников основным этапом является появление фолликулярных (гранулезных) клеток: эпителиально-подобные клетки группируются вокруг ооцитов, затем, благодаря миграции мезенхимальных клеток, образуются первичные фолликулы (Byskov, 1986; Yao, 2005). И при раннем развитии, и в постнатальном онтогенезе при реверсивном процессе (преобразовании яичников в семенники или наоборот) состояние поддерживающих клеток и в первую очередь их количество играют ключевую роль. Именно при достижении определенного порога в количестве клеток Сертоли возможно формирование семенников. Это равновесие должно сохраняться и у взрослых особей, в противном случае возможен реверсивный процесс. Нарушение экспрессии некоторых генов может приводить к дедифференцировке клеток Сертоли и таким образом сокращать их число. На экспериментальных моделях было показано, что при подавлении экспрессии гена *Dmrt1* (doublesex and mab-3 related transcription factor 1) в семенниках лабораторных мышей наблюдается нарушение регуляции гена *Foxl2* и трансформация тестикулярных клеток Сертоли в гранулезные клетки (Matson et al., 2011). Гены *Sox9* (SRY-box 9) и *Sox8* (SRY-box 8) совместно с *Dmrt1* у взрослых мышей обеспечивают защиту от репрограммирования функционирования семенников и их дегенерации (Bagtionuevo et al., 2016). У взрослых самок мышей был экспериментально проверен способ реверсии яичников в семенники путем элиминации того же гена *Foxl2*, что привело к увеличению экспрессии *Sox9* и трансдифференцировке гранулезных клеток в клетки Сертоли (Uhlenhaut et al., 2009). Результаты этих экспериментальных работ позволили выделить сравнительно небольшую группу генов (*Dmrt1*, *Sox9* и *Sox8*, *Foxl2*), изменение регуляции которых оказывается критичным для формирования и поддержания функции гонад в онтогенезе. Таким образом, указанные гены представляют особый интерес для изучения у видов млекопитающих, утративших Y-хро-

мосому или имеющих гонады смешанного типа (ovotestes).

ДЕТЕРМИНАЦИЯ ПОЛА У ВИДОВ СЛЕПУШОНОК, УТРАТИВШИХ Y-ХРОМОСОМУ

Как и у нескольких видов колючехвостых мышей *Tokudaia* (Soullier et al., 1998; Sutou et al., 2001), у четырех из пяти видов слепушонок *Ellobius* — обыкновенной *E. talpinus*, восточной *E. tancrei*, алайской *E. alaicus* (♀XX—♂XX) и горной *E. lutescens* (♀X0—♂X0) — описано отсутствие Y-хромосомы и гена *Sry* (Matthey, 1953; Just et al., 1995; Romanenko et al., 2007). Пятый вид рода — афганская слепушонка *E. fuscocapillus* — характеризуется обычным для млекопитающих определением пола (♀XX—♂XY). У слепушонок с двумя X-хромосомами у самцов и самок *E. talpinus* и *E. tancrei* морфологически неразличимые половые хромосомы в мейозе демонстрируют функциональный гетероморфизм у самцов (Kolomiets et al., 2010; Matveevsky et al., 2016, 2017), что, согласно гипотезе Мёллера—Оно (Muller, 1914; Ohno, 1967), можно рассматривать как начальный этап формирования гетерохромосом.

У четырех изученных видов слепушонок, включая афганскую слепушонку *E. fuscocapillus* (вид, сохранивший Y-хромосому и ген *Sry*), обнаружена делеция в консервативной структуре энхансера *TESCO* (testis-specific enhancer of *Sox9* core) гена *Sox9*, которая, согласно проведенному моделированию, может вести к нарушению регуляции экспрессии этого гена (Bagheri-Fam et al., 2012).

Детерминация пола у видов слепушонок при отсутствии у них гена *Sry* до сих пор не имеет объяснения. Анализ полного генома самца и самки *E. lutescens*, а также самки *E. talpinus* (Mulugeta et al., 2016) не позволил выявить гены, специфичные для каждого пола. Несмотря на то, что Y-хромосома у этих видов отсутствует, в их геноме сохранилось несколько генов, у млекопитающих обычно локализованных на Y-хромосоме, среди них — один из ключевых генов сперматогенеза — фактор сперматогонияльной пролиферации *Eif2s3y* (Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3, Y-linked). Недавно установлено, что достаточно всего лишь двух генов (*Sry* и *Eif2s3y*) для получения жизнеспособной спермы у млекопитающих (Yamauchi et al., 2013). Нами был проведен сравнительный анализ генетических особенностей детерминации пола и эволюции половых хромосом у слепушонок р. *Ellobius* (Matveevsky et al., 2017). В соответствии с предыдущими исследованиями не выявлено какой-либо *Sry*-подобной последовательности у самцов и самок *E. lutescens*, *E. tancrei*, *E. talpinus* и впервые у *E. alaicus*. Неожиданным оказалось наличие высококонсервативного HMG-участка (HMG box, High-Mobility Group box) гена *Sry* не

только в геноме самцов, но и у самок *E. fuscocapillus*. Данный участок гена представлен фрагментами различной длины у разных особей этого вида. Короткие фрагменты HMG box (138 п.н.) были обнаружены во всех исследованных образцах *E. fuscocapillus*, за исключением одной самки, фрагмент большей длины (полный HMG box) выявлен у другой самки. Не исключена вероятность того, что *Sry* представлен в геноме и самцов, и самок этого вида несколькими копиями и мог перейти в состояние псевдогена. Судя по нашим данным по изменчивости гена *Sry* и данным о делеции 14 п.н. участка *TESCO* гена *Sox9* у *E. fuscocapillus* (Bagheri-Fam et al., 2012), оба гена, являющиеся ключевыми для детерминации пола у плацентарных, могут оказаться не функциональными и у *E. fuscocapillus* — единственного вида слепушонок, сохранившего Y-хромосому.

Для реконструкции эволюционной истории половых хромосом у слепушонок и филогенетических связей видов р. *Ellobius* использовались фрагменты гена *Eif2s3y*, а также его гомолога, расположенного на X-хромосоме, — *Eif2s3x* (Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3, X-linked) (Matveevsky et al., 2017). Фрагменты обоих генов выявлены нами и у самцов, и у самок всех видов, включая *E. fuscocapillus*. Более того, по отсеквенированным последовательностям генов *Eif2s3x* и *Eif2s3y* нами не было обнаружено различий между самцами и самками каждого из видов слепушонок, что неудивительно для *Eif2s3x*, но требует объяснения для *Eif2s3y*. Интересно также то, что, по-видимому, часть интрона *Eif2s3y* (206 п.н.) у всех видов слепушонок является доместицированным фрагментом мобильного элемента SINE B2–B4 (Short Interspersed Nuclear Elements B2–B4). Интронная часть *Eif2s3y* значительно отличается у всех изученных видов слепушонок, за исключением видов *E. alaicus* и *E. tancrei*. Реконструкция филогенетических отношений пяти видов слепушонок р. *Ellobius* по данным секвенирования фрагмента гена *Eif2s3y* методом байесовской оценки обратной вероятности показывает хорошую поддержку для всех видов р. *Ellobius* и четкое их разделение на два кластера, соответствующих признаваемым в настоящее время под родам *Ellobius* (*E. talpinus*, *E. tancrei*, *E. alaicus*) и *Bramus* (*E. lutescens* и *E. fuscocapillus*).

Данные генетического анализа позволяют восстановить эволюционную историю р. *Ellobius*. Делеция в энхансере *TESCO* гена *Sox9* является общей для всех видов слепушонок. Вторым важным событием была транслокация фрагмента или фрагментов Y-хромосомы на X, что предшествовало исчезновению Y. Как мы подчеркивали ранее (Матвеевский, 2011; Баклушинская, 2014; Matveevsky et al., 2016, 2017; Bakloushinskaya, Matveevsky, 2018), потеря Y-хромосомы происходила дважды, независимо в двух эволюционных линиях крупных (*E. lutescens*)

и мелких слепушонок (*E. tancrei*, *E. talpinus* и *E. alaicus*). Судя по нашим данным, транслокации фрагментов Y также происходили независимо в этих группах и, более того, затрагивали также и *E. fuscocapillus* — единственный вид, сохранивший Y-хромосому. Удвоение X-хромосомы, вероятно, произошло уже после утраты Y-хромосомы в под роде *Ellobius* (т.е. у *E. tancrei*, *E. talpinus* и *E. alaicus*). *E. fuscocapillus*, *E. lutescens* и виды под рода *Ellobius* демонстрируют также специфические особенности мейоза (Kolomiets et al., 1991, 2010; Matveevsky et al., 2016, 2017).

На сегодняшний день остаются неизвестными гены, обеспечивающие детерминацию пола у слепушонок. Ранее были высказаны две гипотезы: 1) вследствие отсутствия гена *Sry* и возможного нарушения регуляции гена *Sox9* их могут замещать гены, следующие далее по каскаду активации, аналогичному таковому у человека и мышей; 2) у слепушонок возможна эпигенетическая регуляция детерминации пола (Chandra, 1999). Обе гипотезы были проверены большим коллективом исследователей под руководством проф. В. Джаста (Университет Ульм, Германия). Изучены гены *Nr5a1* (nuclear receptor subfamily 5 group A member 1), *Sox3* (SRY-box 3), *Atrx* (alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked), *Foxl2/Pisrt1* (polled intersex syndrome regulated transcript 1), *Dmrt1*, *Nr0b1* (nuclear receptor subfamily 0 group B member 1), *Ar* (androgen receptor) (Just et al., 1995, 2007; Baumstark et al., 2001, 2005). Соответствие между наследованием аллельных вариантов генов и полом животных не было обнаружено. Также не было показано наследование родительских хромосом в соответствии с полом (т.е. от отца к сыну, от матери к дочери) у *E. lutescens* — вида с единственной половой хромосомой (X0). Таким образом, вопрос о генетической основе детерминации пола у слепушонок остается открытым, тем самым подвергая сомнению единообразие детерминации пола у плацентарных млекопитающих.

ГОНАДЫ СМЕШАННОГО ТИПА (OVOTESTES) У TALPIDAE

Наличие гонад смешанного типа (так называемых ovotestes) у половозрелых особей ряда групп млекопитающих подтверждает гипотезу о бипотенциальности эмбриональных гонад и необходимости жесткого контроля регуляции экспрессии генов не только в эмбриональный период, но и в постнатальном онтогенезе у видов и особей с типичными для плацентарных гонадами. У *Homo sapiens* описан широкий спектр нарушений формирования гонад, обусловленный различными мутациями, например, транслокацией фрагмента Y-хромосомы, включающего ген *SRY*, на X-хромосому (McElreavey, Cortes, 2001), что ведет к смене генетического женского пола на фенотипически

мужской у индивидуумов с генотипом 46,XX; делецией фрагмента гена *DMRT1*, приводящей к формированию ovotestes у фенотипических женщин с кариотипом 46,XY (Ledig et al., 2012), химеризму (наличию смешанной популяции клеток 46,XX/46,XY или 46,XX/47,XXY, реже 45,X/46,XY) и др. (Irmak, 2010; Barseghyan et al., 2018). Наибольший интерес представляют случаи смены пола у особей 46,XX (мужской тип развития) и 46,XX (истинные гермафродиты), у которых в отсутствие гена *SRY* формируются семенники. Как правило, это редкое явление, хотя описаны семьи, в которых подобные нарушения развития происходят из поколения в поколение (Dorsey et al., 2009), что доказывает способность к размножению для ряда носителей мутаций.

Сходные мутации наблюдаются у лабораторных мышей: существуют линии мышей с ovotestes, например, линия B6-XY POS (Wilhelm et al., 2009). Но такие генотипические и фенотипические изменения – аномалии, которые не характерны для вида в целом. Вместе с тем известны виды млекопитающих, у которых в норме у всех самок формируются гонады смешанного типа. Один из наиболее загадочных феноменов наблюдается у некоторых представителей кротовых Talpidae. У самцов, имеющих половые хромосомы XY, формируются характерные для млекопитающих семенники; их развитие начинается благодаря экспрессии гена *Sry*, как у подавляющего большинства плацентарных млекопитающих (Sánchez et al., 1996). У самок с половыми хромосомами XX формируются гонады, имеющие центральное ядро – яичник, который окружен тестикулярной тканью. Целый ряд морфологических характеристик (наличие специфичных оболочек, тяжей и др.) позволяет охарактеризовать такую гонаду как ovotestes. Подобные гонады описаны у четырех видов кротов р. *Talpa*: *T. europaea*, *T. occidentalis*, *T. romana* и *T. stankovici* (Matthews, 1935; Jiménez et al., 1993, 2013; Sánchez et al., 1996; Beolchini et al., 2000); пиренейской выхухолы *Galemys pyrenaicus* (Peure, 1962); разных видов кротов, обитающих в Непарктике, включая звездорыла *Condylura cristata*, крота *Neurotrichus gibbsii* и некоторых других (Rubenstein et al., 2003). Вопрос о функциональной значимости тестикулярной части гонады, т.е. о том, являются ли кроты указанных видов истинными гермафродитами, пока остается открытым. Гонады у самцов и самок кротов претерпевают значительные сезонные изменения морфологии и гормональной активности.

Наиболее детально изучена морфология ovotestes у иберийского крота *T. occidentalis* (Barrionuevo et al., 2004; Jiménez, 2009). В овариальной части ovotestes формируются нормальные фолликулы, по видимому, именно эта часть гонады обеспечивает фертильность самок кротов. У взрослых особей тестикулярная часть превышает по размеру ова-

риальную почти в 10 раз, большое количество клеток Лейдига продуцирует тестостерон (Jiménez et al., 1993). Также в тестикулярной части гонады описаны сферические образования, которые содержат эпителиально-подобные клетки, сходные с незрелыми клетками Сертоли. Первичные половые клетки в этой части ovotestes по данным одних исследований отсутствуют (Barrionuevo et al., 2004), но по данным иммуноцитохимического анализа мейоз в ней идет (Zurita et al., 2007). Характерными для семенников структурами, которые описаны в ovotestes, являются оболочка – tunica albuginea, а также рудиментарные эпидидимисы и сосудистая система, характерная для мужских гонад (Jiménez et al., 1993; Carmona et al., 2009).

Изучение молекулярных механизмов детерминации пола у кротов показало, что у исследованных видов структура гена *Sry* весьма консервативна (Jiménez et al., 1993). Анализ некоторых других генов детерминации пола также не выявил значимых изменений в их структуре по сравнению с таксономически близкими группами.

У самок иберийского крота начало мейоза отложено до постнатального периода развития, что нехарактерно для млекопитающих (обычно мейоз проходит в эмбриональный период и останавливается на стадии диктиотены в первые дни после рождения). У самок иберийского крота мейоз начинается на четвертый–пятый день после рождения, а первые незрелые фолликулы формируются на 15-й день (Barrionuevo et al., 2004; Zurita et al., 2007). Это уникальный случай для млекопитающих. Высказана гипотеза (Carmona et al., 2009) о том, что формирование ovotestes у иберийского крота может быть связано с изменениями сигнального пути *Wnt4*, ключевого для формирования женских гонад, однако подтверждений этому пока не получено.

Таким образом, остается непонятным, почему у самок ряда видов кротовых формируется гонада смешанного типа, почему у взрослых самок идет мейоз, причем и в овариальной, и в тестикулярной части ovotestes (Zurita et al., 2007), почему в тестикулярной части продуцируется тестостерон вне периода размножения, имеет ли это какое-то адаптивное значение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К настоящему времени, несмотря на очевидный прогресс в изучении генетических механизмов детерминации пола, по-прежнему неясно, насколько изменчивыми могут быть гены, вовлеченные в этот процесс, и система регуляции их экспрессии. Изучение гонад смешанного типа имеет фундаментальное значение для понимания механизмов развития эмбриональных бипотенциальных гонад и возможности реверсии гонад

взрослых особей у видов с обычным определением пола (Carmona et al., 2008). Значительная доля тяжелых заболеваний человека связана с возникновением мутаций генов детерминации пола (Matzuk, Lamb, 2008; Ahmed et al., 2013; Bashamboo, McElreavey, 2013; Lee et al., 2016). Исследование видов с различными отклонениями в структуре генома (XX или X0 у самок и самцов, полная или частичная потеря Y-хромосомы), а также в строении гонад (формирование гонад смешанного типа, сочетающих структуры семенников и яичников) может оказаться ключевым для понимания эволюции генетических механизмов детерминации пола.

Исследование выполнено в рамках раздела Государственного задания ИБР РАН № 0108-2019-0007 и ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН № 0112-2019-0002; поддержано РФФИ, проект № 17-04-00618.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баклушинская И.Ю., 2014. Особенности детерминации пола и репродуктивной биологии однопроходных, сумчатых и плацентарных млекопитающих // Зоол. журн. Т. 93. № 8. С. 998–1009.
- Матвеевский С.Н., 2011. Признаки полового диморфизма мейоза и изменчивость кариотипа у слепушонки рода *Ellobius* (Rodentia, Mammalia) // Дис... канд. биол. наук. М.: Ин-т общ. генетики им. Н.И. Вавилова РАН. 172 с.
- Попадьин К.Ю., 2003. Эволюция полового размножения: Роль вредных мутаций и мобильных элементов // Журн. общ. биологии. Т. 64. № 6. С. 463–478.
- Смирнов А.Ф., Трухина А.В., 2016. Молекулярно-генетические механизмы детерминации пола у животных. СПб.: Нестор-История. 168 с.
- Abbott J.K., Nordén A.K., Hansson B., 2017. Sex chromosome evolution: Historical insights and future perspectives // Proc. R. Soc. B. V. 284. № 1854. P. 20162806.
- Ahmed S.F., Bashamboo A., Lucas-Herald A., McElreavey K., 2013. Understanding the genetic aetiology in patients with XY DSD // Br. Med. Bull. V. 106. № 1. P. 67–89.
- Bachtrog D., Mank J.E., Peichel C.L., Kirkpatrick M., Otto S.P. et al., 2014. Sex determination: Why so many ways of doing it? // PLoS Biol. V. 12. № 7. P. e1001899.
- Bagheri-Fam S., Sreenivasan R., Bernard P., Knowler K.C., Sekido R. et al., 2012. *Sox9* gene regulation and the loss of the XY/XX sex-determining mechanism in the mole vole *Ellobius lutescens* // Chromosome Res. V. 20. № 1. P. 191–199.
- Bakloushinskaya I., Matveevsky S., 2018. Unusual ways to lose a Y chromosome and survive with changed autosomes: A story of mole voles *Ellobius* (Mammalia, Rodentia) // OBM Genet. V. 2. № 3. <https://doi.org/10.21926/obm.genet.1803023>
- Barrionuevo F.J., Zurita F., Burgos M., Jiménez R., 2004. Testis-like development of gonads in female moles. New insights on mammalian gonad organogenesis // Dev. Biol. V. 268. № 1. P. 39–52.
- Barrionuevo F.J., Hurtado A., Kim G.J., Real F.M., Bakkali M. et al., 2016. *Sox9* and *Sox8* protect the adult testis from male-to-female genetic reprogramming and complete degeneration // Elife. V. 5. P. e15635.
- Barseghyan H., Délot E.C., Vilain E., 2018. New technologies to uncover the molecular basis of disorders of sex development // Mol. Cell. Endocrinol. V. 468. P. 60–69.
- Bashamboo A., McElreavey K., 2013. Gene mutations associated with anomalies of human gonad formation // Sex. Dev. V. 7. № 1–3. P. 126–146.
- Baumstark A., Hameister H., Hakhverdyan M., Bakloushinskaya I., Just W., 2005. Characterization of *Pisrt1/Foxl2* in *Ellobius lutescens* and exclusion as sex-determining genes // Mamm. Genome. V. 16. № 4. P. 281–289.
- Baumstark A., Akhverdyan M., Schulze A., Reiser I., Vogel W., Just W., 2001. Exclusion of *Sox9* as the testis determining factor in *Ellobius lutescens*: Evidence for another testis determining gene besides *SRY* and *SOX9* // Mol. Genet. Metab. V. 72. № 1. P. 61–66.
- Beolchini F., Rebecchi L., Capanna E., Bertolani R., 2000. Female gonad of moles, genus *Talpa* (Insectivora, Mammalia): Ovary or ovotestis? // J. Exp. Zool. V. 286. № 7. P. 745–754.
- Biason-Lauber A., Chaboissier M.C., 2015. Ovarian development and disease: The known and the unexpected // Semin. Cell Dev. Biol. V. 45. P. 59–67.
- Burgoyne P., Palmer S., 1993. Cellular basis of sex determination and sex reversal in mammals // Gonadal Development and Function / Ed. Hiller S.G. N.Y.: Raven Press. P. 17–29.
- Byskov A.G., 1986. Differentiation of mammalian embryonic gonad // Physiol. Rev. V. 66. № 1. P. 71–117.
- Capel B., 2017. Vertebrate sex determination: Evolutionary plasticity of a fundamental switch // Nat. Rev. Genet. V. 18. № 11. P. 675–689.
- Carmona F.D., Motokawa M., Tokita M., Tsuchiya K., Jiménez R., Sánchez-Villagra M.R., 2008. The evolution of female mole ovotestes evidences high plasticity of mammalian gonad development // J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol. V. 310. № 3. P. 259–266.
- Carmona F.D., Lupiáñez D.G., Real F.M., Burgos M., Zurita F., Jiménez R., 2009. *Sox9* is not required for the cellular events of testicular organogenesis in XX mole ovotestes // J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol. V. 312. № 3. P. 734–748.
- Cavalli-Sforza L.L., Bodmer W.F., 1978. The Genetics of Human Populations. San Francisco: Freeman. 965 p.
- Chandra S.H., 1999. Another way of looking at the enigma of sex determination in *Ellobius lutescens* // Curr. Sci. V. 76. № 8. P. 1072–1073.
- Dorsey F.Y., Hsieh M.H., Roth D.R., 2009. 46,XX SRY-negative true hermaphrodite siblings // Urology. V. 73. № 3. P. 529–531.
- García-Moreno S.A., Plebanek M.P., Capel B., 2018. Epigenetic regulation of male fate commitment from an initially bipotential system // Mol. Cell. Endocrinol. V. 468. P. 19–30.
- Gubbay J., Collignon J., Koopman P., Capel B., Economou A. et al., 1990. A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes // Nature. V. 346. № 6281. P. 245–250.

- Gubbay J., Vivian N., Economou A., Jackson D., Goodfellow P. et al., 1992. Inverted repeat structure of the *Sry* locus in mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 89. № 17. P. 7953–7957.
- Irmak M.K., 2010. Self-fertilization in human: Having a male embryo without a father // Med. Hypotheses. V. 75. № 5. P. 448–451.
- Jiménez R., 2009. Ovarian organogenesis in mammals: Mice cannot tell us everything // Sex. Dev. V. 3. № 6. P. 291–301.
- Jiménez R., Barrionuevo F.J., Burgos M., 2013. Natural exceptions to normal gonad development in mammals // Sex. Dev. V. 7. P. 147–162.
- Jiménez R., Burgos M., Sánchez A., Sinclair A.H., Alarcón F.J. et al., 1993. Fertile females of the mole *Talpa occidentalis* are phenotypic intersexes with ovotestes // Development. V. 118. № 4. P. 1303–1311.
- Just W., Rau W., Vogel W., Akhverdian M., Fredga K. et al., 1995. Absence of *Sry* in species of the vole *Ellobius* // Nat. Genet. V. 11. № 2. P. 117–118.
- Just W., Baumstark A., Süß A., Graphodatsky A., Rens W., Schäfer N., Bakloushinskaya I. et al., 2007. *Ellobius lutescens*: Sex determination and sex chromosome // Sex. Dev. V. 1. № 4. P. 211–221.
- Kolomiets O.L., Matveevsky S.N., Bakloushinskaya I.Y., 2010. Sexual dimorphism in prophase I of meiosis in the Northern mole vole (*Ellobius talpinus* Pallas, 1770) with isomorphic (XX) chromosomes in males and females // Comp. Cytogenet. V. 4. № 1. P. 55–66.
- 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. V. 84. № 3. P. 179–189.
- Kondrashov A.S., 1988. Deleterious mutations and the evolution of sexual reproduction // Nature. V. 336. № 6198. P. 435–440.
- Koopman P., Gubbay J., Vivian N., Goodfellow P., Lovell-Badge R., 1991. Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry* // Nature. V. 351. № 6322. P. 117–121.
- Kuroki S., Matoba S., Akiyoshi M., Matsumura Y., Miyachi H. et al., 2013. Epigenetic regulation of mouse sex determination by the histone demethylase *Jmjd1a* // Science. V. 341. № 6150. P. 1106–1109.
- Kuroki S., Okashita N., Baba S., Maeda R., Miyawaki S. et al., 2017. Rescuing the aberrant sex development of H3K9 demethylase *Jmjd1a*-deficient mice by modulating H3K9 methylation balance // PLoS Genet. V. 13. № 9. P. e1007034.
- Ledig S., Hiort O., Wünsch L., Wieacker P., 2012. Partial deletion of *DMRT1* causes 46,XY ovotesticular disorder of sexual development // Eur. J. Endocrinol. V. 167. № 1. P. 119–24.
- Lee P.A., Nordenström A., Houk C.P., Ahmed S.F., Auchus R. et al., 2016. Global disorders of sex development update since 2006: Perceptions, approach and care // Horm. Res. Paediatr. V. 85. № 3. P. 158–180.
- Li W., Notani D., Rosenfeld M.G., 2016. Enhancers as non-coding RNA transcription units: Recent insights and future perspectives // Nat. Rev. Genet. V. 17. № 4. P. 207–223.
- Matson C.K., Murphy M.W., Sarver A.L., Griswold M.D., Bardwell V.J., Zarkower D., 2011. *DMRT1* prevents female reprogramming in the postnatal mammalian testis // Nature. V. 476. № 7358. P. 101–104.
- Matthews L.H., 1935. The oestrous cycle and intersexuality in the female mole (*Talpa europaea* Linn.) // Proc. Zool. Soc. Lond. P. 347–383.
- Matthey R., 1953. La formule chromosomique et le problème de la détermination sexuelle chez *Ellobius lutescens* (Rodentia-Muridae-Microtinae) // Arch. Julius Klaus-Stift Vererb. Forsch. V. 28. P. 65–73.
- Matveevsky S., Bakloushinskaya I., Kolomiets O., 2016. Unique sex chromosome systems in *Ellobius*: How do male XX chromosomes recombine and undergo pachytene chromatin inactivation? // Sci. Rep. V. 6. <https://doi.org/10.1038/srep29949>
- Matveevsky S., Kolomiets O., Bogdanov A., Hakhverdyan M., Bakloushinskaya I., 2017. Chromosomal evolution in mole voles *Ellobius* (Cricetidae, Rodentia): Bizarre sex chromosomes, variable autosomes and meiosis // Genes. V. 8. № 11. P. E306.
- Matzuk M.M., Lamb D.J., 2008. The biology of infertility: Research advances and clinical challenges // Nat. Med. V. 14. № 11. P. 1197–1213.
- McElreavey K., Cortes L.S., 2001. X-Y translocations and sex differentiation // Semin. Reprod. Med. V. 19. № 2. P. 133–139.
- Merchant-Larios H., Taketo T., 1991. Testicular differentiation in mammals under normal and experimental conditions // J. Electron Microsc. Tech. V. 19. № 2. P. 158–171.
- Muller H.J., 1914. A gene for the fourth chromosome of *Drosophila* // J. Exp. Zool. V. 17. № 3. P. 325–336.
- Mulugeta E., Wassenaar E., Sleddens-Linkels E., IJcken W.F., van, Heard E. et al., 2016. Genomes of *Ellobius* species provide insight into the evolutionary dynamics of mammalian sex chromosomes // Genome Res. V. 26. № 9. P. 1202–1210.
- Nishibuchi G., Dejardin J., 2017. The molecular basis of the organization of repetitive DNA-containing constitutive heterochromatin in mammals // Chromosome Res. V. 25. № 1. P. 77–87.
- Nishino K., Hattori N., Tanaka S., Shiota K., 2004. DNA methylation-mediated control of *Sry* gene expression in mouse gonadal development // J. Biol. Chem. V. 279. № 21. P. 22306–22313.
- Ohno S., 1967. Sex Chromosomes and Sex Linked Genes. Heidelberg: Springer-Verlag. 202 p.
- Parma P., Radi O., Vidal V., Chaboissier M.C., Dellambra E. et al., 2006. *R-spondin1* is essential in sex determination, skin differentiation and malignancy // Nat. Genet. V. 38. № 11. P. 1304–1309.
- Peyre A., 1962. Recherches sur l'intersexualité spécifique chez *Galemys pyrenaicus*, G. (Mammifere Insectivore) // Arch. Biol. V. 73. P. 1–174.
- Romanenko S.A., Sitnikova N.A., Serdukova N.A., Perelman P.L., Rubtsova N.V., Bakloushinskaya I.Y. et al., 2007. Chromosomal evolution of Arvicolinae (Cricetidae, Rodentia). II. The genome homology of two mole voles (genus *Ellobius*), the field vole and golden hamster revealed by comparative chromosome painting // Chromosome Res. V. 15. № 7. P. 891–897.

- Rubenstein N.M., Cunha G.R., Wang Y.Z., Campbell K.L., Conley A.J. et al., 2003. Variation in ovarian morphology in four species of New World moles with a peniform clitoris // *Reproduction*. V. 126. № 6. P. 713–719.
- Sánchez A., Bullejos M., Burgos M., Hera C., Jiménez R., Díaz de la Guardia R., 1996. High sequence identity between the *SRY* HMG box from humans and insectivores // *Mamm. Genome*. V. 7. № 7. P. 536–538.
- Sinclair A.H., Berta P., Palmer M.S., Hawkins J.R., Griffiths B.L. et al., 1990. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif // *Nature*. V. 346. № 6281. P. 240–244.
- Soullier S., Hanni C., Catzeflis F., Berta P., Laudet V., 1998. Male sex determination in the spiny rat *Tokudaia osimensis* (Rodentia: Muridae) is not *Sry* dependent // *Mamm. Genome*. V. 9. № 7. P. 590–592.
- Sutou S., Mitsui Y., Tsuchiya K., 2001. Sex determination without the Y chromosome in two Japanese rodents *Tokudaia osimensis osimensis* and *Tokudaia osimensis* spp. // *Mamm. Genome*. V. 12. № 1. P. 17–21.
- Svendsen N., Reisser C.M.O., Dukić M., Thuillier V., Ségard A. et al., 2015. Uncovering cryptic asexuality in *Daphnia magna* by RAD-sequencing // *Genetics*. V. 201. № 3. P. 1143–1155.
- Uhlenhaut N.H., Jakob S., Anlag K., Eisenberger T., Sekido R. et al., 2009. Somatic sex reprogramming of adult ovaries to testes by *FOXL2* ablation // *Cell*. V. 139. № 6. P. 1130–1142.
- Welch D.B.M., Meselson M., 2000. Evidence for the evolution of bdelloid rotifers without sexual reproduction or genetic exchange // *Science*. V. 288. № 5469. P. 1211–1215.
- Wilhelm D., Palmer S., Koopman P., 2007. Sex determination and gonadal development in mammals // *Physiol. Rev.* V. 87. № 1. P. 1–28.
- Wilhelm D., Washburn L.L., Truong V., Fellous M., Eicher E.M., Koopman P., 2009. Antagonism of the testis- and ovary-determining pathways during ovotestis development in mice // *Mech. Dev.* V. 126. № 5. P. 324–336.
- Windley S.P., Wilhelm D., 2015. Signaling pathways involved in mammalian sex determination and gonad development // *Sex. Dev.* V. 9. № 6. P. 297–315.
- Yamauchi Y., Riel J.M., Stoytcheva Z., Ward M.A., 2013. Two Y genes can replace the entire Y chromosome for assisted reproduction in the mouse // *Science*. V. 343. № 6166. P. 69–72.
- Yao H.H., 2005. The pathway to femaleness: Current knowledge on embryonic development of the ovary // *Mol. Cell. Endocrinol.* V. 230. № 1–2. P. 87–93.
- Zurita F., Carmona F.D., Lupiáñez D.G., Barrionuevo F.J., Guioli S. et al., 2007. Meiosis onset is postponed to postnatal stages during ovotestis development in female moles // *Sex. Dev.* V. 1. № 1. P. 66–76.

Genetic mechanisms of sex determination in mammals lacking a Y chromosome

I. Yu. Bakloushinskaya^{a,*}, A. S. Bogdanov^a, A. S. Mikaelyan^a,
V. G. Tambovtseva^a, S. N. Matveevsky^b

^aKoltzov Institute of Developmental Biology, RAS
119334 Moscow, Vavilova, 26, Russia

^bVavilov Institute of General Genetics, RAS
119991 Moscow, Gubkina, 3, Russia

*e-mail: i.bakloushinskaya@idbras.ru

Genetic sex determination is realized by a complex cascade of genes. In mammals, sex is determined by genes whose precise temporal and spatial regulation leads to the development of testes or ovaries from bipotential embryonic gonads. Genetic development programs along the female or male pathway are not completely different, a significant part of the genes involved in both pathways. In placental mammals, activation of the Y-linked gene *Sry* (sex-determining region Y) initiates testicular development. When *Sry* is not present, as in XX individuals, the bipotential gonads develop into ovaries. Y chromosome and *Sry* gene were lost in two rodents genera, mole voles genus *Ellobius* and spiny rats *Tokudaia*. In four mole vole species without Y chromosomes, a few Y-linked genes escaped to the X chromosome and exposed in male and female genomes. Two X chromosomes in males and females of *E. talpinus* and *E. tancrei* are morphologically identical, but functional differences are evident in meiosis. So far, no explanation has been received for existence of males and females in mole voles and spiny rats along with the *Sry* loss and possible upregulation of the *Sox9* gene. Several genes, usually localized in a Y-chromosome, exist in female and male genomes of mole voles, such as a factor spermatogonial proliferation (*Eif2s3y*, Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3, Y-linked). In species with two X-chromosomes in individuals of both sexes, the morphological identity of sex chromosomes masks functional heteromorphism, which can be detected in the meiosis only. The existence of males and females for the mole voles *Ellobius* and the spiny rats *Tokudaia* in the absence of the *Sry* gene and a possible violation of expression of the *Sox9* gene has not yet been explained. To date, it remains unclear how variable the cascade of genes involved in the sex determination can be. Study of different deviations in the structure of the genome, such as XX or X0 females and males, full or partial loss of the Y chromosome, as well as in the structure of the gonads, may be crucial for understanding the sex determination genetics.