

УДК 579.88:591.557.61:595.771

РАСПРОСТРАНЕНИЕ Р-ЭЛЕМЕНТА В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* УКРАИНЫ

А.В. ПРОЦЕНКО, Д.И. КОЗЕРЕЦКАЯ, О.В. ЖУК, И.А. КОЗЕРЕЦКАЯ

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
Украина, Киев, 01033, ул. Владимирская, 64.

С помощью ПЦР продемонстрировано наличие копий Р-элемента в геномах Drosophila melanogaster из природных популяций Украины. Наблюдаемый уровень редукции гонад косвенно свидетельствует об отсутствии или низкой активности мобильных элементов в изученных природных популяциях дрозофил. Сниженная частота рекомбинации у самок на участке между генами white (w, 1-1,5) и cut (ct, 1-20) возможно есть следствием некоторого нарушения гомологии в соответствующих последовательностях гомологичных хромосом, причиной которого может быть различная картина встраивания копий Р-элемента в X-хромосомах разных популяций.

Ключевые слова: Р-элемент, *Drosophila melanogaster*.

ВВЕДЕНИЕ. На сегодняшний день считается, что двадцать два процента генома *Drosophila melanogaster* представлено мобильными элементами (МЭ), принадлежащими к различным семействам [1]. В семейство Р-элемента (автономный МЭ, размером 2,9 т.п.н.) входят МЭ способные вызывать Р-М гибридный дисгенез в определенной системе скрещиваний [2]. Все известные линии мух в отношении наличия Р-элемента и картины гибридного дисгенеза, которой они характеризуются, делятся на три типа: отсутствие Р-элемента (М-цитотип), наличие Р-элемента (Р-цитотип, Q-цитотип) [2]. Явлению гибридного дисгенеза присущи такие эффекты как высокая частота редукции гонад, повышенная частота мутирования и рекомбинация у самцов [3]. Было установлено, что в лабораторных линиях и в природных популяциях дрозофил, собранных до 1950 года Р-элемент отсутствовал [4]. В 80-е годы в природных популяциях на территории бывшего Советского Союза и Австралии [4, 5] этот МЭ также не встречался, хотя был распространен в Европе. В 90-е годы продемонстрировано его наличие в природных популяциях Японии [6]. Что касается природных популяций Украины, то в 2006 году была опубликована работа,

демонстрирующая, что в линиях, производных от природной Уманской популяции сбора 1983 года, присутствуют неполноразмерные копии этого элемента [7]. Более детальных исследований по МЭ природных популяций дрозофил в Украине ранее не проводилось.

Целью этой работы было изучение распространения Р-элемента в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Украины.

Материалы и методы

Материалом для работы послужили линии *Drosophila melanogaster* происходящие из различных природных популяций Украины (Киева, Одессы, Лубнов, Пирятина, Чернобыля (три популяции), Умани), собранные в 2006 году, а также лабораторная линия *Conton S* (линия дикого типа) находящаяся в коллекции лаборатории кафедры общей и молекулярной генетики Киевского национального университета имени Тараса Шевченко с 1992 года и любезно предоставленная в то время кафедрой генетики Московского университета им. М.В. Ломоносова.

Оценку редукции гонад (gonadal dysfunction assay, GD) проводили изолировав их и оценивая степень развития визуально. Учитывали только одно- и двухстороннюю редукцию яичников и семенников. Проанализировано по 50 особей каждого пола для всех природных популяций и лабораторной линии *Conton S*. Процент GD вычисляли по формуле $\%GD = 1/2\%GD(1) + \%GD(2)$, где $\%GD(1)$ — относительное количество особей с одним редуцированным яичником/семенником в процентах от общего количества; $\%GD(2)$ — относительное количество особей с двухсто-

ронней редукцией гонад в процентах от общего количества.

Выделяли суммарную ДНК из взрослых особей мух каждой популяции с использованием QIAamp DNA Micro Kit ("Qiagen"). С помощью ПЦП нарабатывали фрагмент Р-элемента длиной 437 п.о. (используя праймеры 5'-ACGTTTGCTTGTGAGAGGA-3', 5'-AACAGGACCTAACGCACAGT-3').

В тесте на частоту рекомбинационных событий в половой хромосоме самок *Drosophila melanogaster* использовали линию *w ct*, которая маркирована рецессивными мутациями *white* (*w*, 1-1,5) и *cut* (*ct*, 1-20). Самцов из природных популяций скрещивали с виргинными самками линии *w ct*. Потомков первого поколения скрещивали между собой. Частоту кроссинговера определяли, анализируя распределение фенотипических признаков у потомков второго поколения.

Результаты и обсуждение

В различных регионах Украины, которые по своему расположению представляют широтный срез страны с севера на юг (рис. 1), были собраны особи из природных популяции *Drosophila melanogaster*, поскольку известно, что до 80-х годов прошлого столетия не все природные популяции этого вида характеризовались наличием Р-элемента, а именно для популяций с территорий бывшего Советского Союза наличие этого типа МЭ не отмечалось [2]. ДНК, выделенная из особей каждой из собранных популяций, была проверена на наличие в геноме копий Р-элемента с помощью ПЦП (рис. 2). Использованные праймеры для ПЦП анализа были специфичны к фрагменту 41–477 п.н. последовательности гена, кодирующего транспозазу Р-эле-



Рисунок 1. Карта Украины с указанием регионов сбора *Drosophileidae*

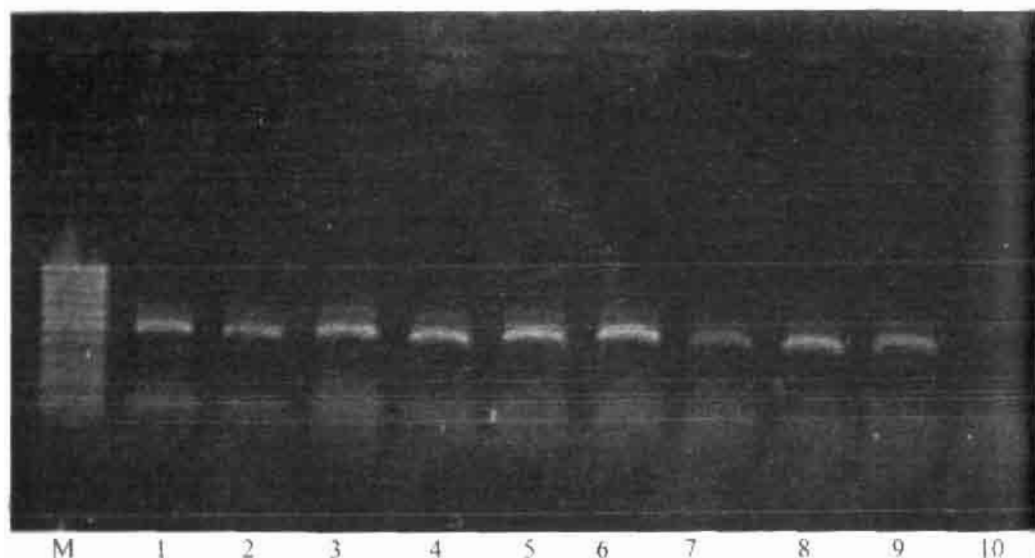


Рисунок 2. ПЦР-анализ линий на наличие фрагмента транспозазы Р-элемента: М - маркер молекулярной массы, 1-9 - фрагменты полученные из ДНК мух природных популяций, 10 - ДНК линии *Conton 5*

мента. На ДНК всех линий, за исключением лабораторной линии дикого типа *Canton S*, был получен продукт ожидаемого размера. Следовательно, мы можем утверждать, что во всех природных популяциях наблюдается наличие копий Р-элемента. Однако, так как праймеры специфичны к небольшому фрагменту транспозазы, мы не можем говорить о полноразмерности исследованных нами МЭ. Вопрос о разнообразии копий Р-элемента в отношении их полноразмерности требует дальнейших исследований. Интересным является тот факт, что за время, прошедшее с восьмидесятых годов, МЭ распространились по всей территории Украины.

Определенная частота редукции гонад является одним из признаков активности мобильных элементов у дрозофил. Этот показатель в изученных природных популяциях колебался от 0 (что не позволяет учесть таковую, если она меньше 1%) до $23 \pm 6,0\%$ в 2005 году и $12 \pm 4,6\%$ в 2006 году (табл. 1). Такие показатели уровня редукции гонад позволяют сделать вы-

вод о том, что ни в одной из изученных популяций, включая лабораторную линию дикого типа *Canton S*, которая, как известно [8], может и не содержать изучаемый мобильный элемент, активного перемещения мобильных элементов в момент исследования не наблюдалось, а также косвенно свидетельствует об отсутствии в пределах каждой природной популяции мух с различным цитотипом. Для определения цитотипа исследованных линий требуется проведение дополнительных исследований с привлечением линии, не содержащей в своем геноме исследованный МЭ.

Из литературы известно, что для природных популяций *Drosophila melanogaster* характерно явление, получившее название "мутационной вспышки" [9]. Не исключается, что это явление может быть прямым следствием активности мобильных элементов [9]. Ранее нами продемонстрировано, что для природных популяций дрозофил 2005–2006 годов это явление не наблюдалось [10, 11]. Следовательно, геномы мух исследованных

Таблица 1. Частота редукции гонад у особей *Drosophila melanogaster*

Природная популяция	Частота редукции гонад %			
	2005		2006	
	♀	♂	♀	♂
Киив	0	0	$8 \pm 3,8$	0
Умань	0	0	$2 \pm 2,0$	0
Одесса	$2 \pm 2,0$	0	$4 \pm 2,8$	0
Чернобыль 50 мкР/час	$23 \pm 6,0$	$2 \pm 2,0$	$6 \pm 3,4$	0
Чернобыль 100 мкР/час	$1 \pm 1,4$	0	$2 \pm 2,0$	0
Чернобыль 2100 мкР/час	$11 \pm 4,4$	0	$8 \pm 3,8$	0
Лубны	$8 \pm 3,8$	0	$4 \pm 2,8$	0
Партизан	$3 \pm 2,4$	0	$2 \pm 2,0$	0
Canton S	$8 \pm 3,8$	0	$4 \pm 2,8$	0

популяций, несут Р-элемент, активного перемещения которого в момент исследования не отмечено.

Показано, что наличие МЭ может влиять на частоту рекомбинационных событий [12]. В проведенных нами экспериментах частота рекомбинации на участке между генами *w* и *ct* всегда оказывалась ниже теоретически ожидаемой величины (18,5 сМ) (табл. 2). Полученный результат укладывается в представления о том, что встраивание МЭ приводит к некоторому нарушению гомологии в паре хромосом и, следовательно, к снижению частоты рекомбинации на участке встраивания [12].

Наличие копий Р-элемента отмечено во всех изученных природных популяциях *Drosophila melanogaster* Украины. Наблюдаемая частота рекомбинации на участке между генами *white* (*w*, 1-1,5) и *cut* (*ct*, 1-20) косвенно подтверждает полученный результат. Низкий уровень редукции гонад свидетельствует об отсутствии активного перемещения мобильных элементов в природных популяциях дрозофил Украины.

Авторы выражают благодарность: С. Рушковскому, А. Залисскому, В. Ми-

ленко, Г. Милюевскому, а также сотрудникам биологического факультета Одесского университета за помощь в сборе материала.

Список литературы

1. Kapitonov V.V., Jurka J. Molecular paleontology of transposable elements in the *Drosophila melanogaster* genom // PNAS. — 2003. — Vol. 100, № 11. — P. 6569–6574.
2. Kidwell M.G. Hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*: nature and inheritance of P element regulation // Genetics. — 1985. — Vol. 111, № 2. — P. 337–350.
3. Broadhead R.S., Kidwell J.F., Kidwell M.G. Variation of the recombination fraction in *Drosophila melanogaster* females // J. Hered. — 1977. — Vol. 68, № 5. — P. 323–326.
4. Kidwell M.G. Evolution of hybrid dysgenesis determinants in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1983. — Vol. 80. — P. 1655–1659.
5. Захаров И.К. Роль Р- и М-цитотипов в контроле мутирования нестабильных аллелей гена *singed* у *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1984. — Т. 20, № 1. — С. 42–50.
6. Sumiko Gamo, Miyuki Sakajo, Kumiko Ikeda. Temporal distribution of P elements in *Drosophila melanogaster* strains from

Таблица 2. Частота рекомбинационных событий у гетерозигот *Drosophila melanogaster* на участке между генами (*w*, 1-1,5) и *cut* (*ct*, 1-20)

Природная популяция	Частота рекомбинации, %
Киев	11,607±1,3
Умань	15,25±1,7
Одесса	9,25±1,0
Чернобыль 50 мкР/час	8,87±0,9
Чернобыль 100 мкР/час	15,89±1,7
Чернобыль 2100 мкР/час	18,21±2,0
Лубны	10,07±1,1
Пирятин	13,93±1,5
Canton S	18,5±1,9

natural population in Japan // *Jpn. J. Genet.* — 1990. — Vol. 65. — P. 277–285.

Коваленко Л.В., Захаренко Л.П., Волошина М.А., Карамышева Т.В., Рубцов Н.Б., Захаров И.К. Поведение транспозонов *hobo* и Р в нестабильной линии *yellow²⁷¹⁷ Drosophila melanogaster* и ее производных после скрещиваний с лабораторной линией // *Генетика.* — 2006. — Т. 42, № 6. — С. 748–756.

Roberts D.B. *Drosophila* a practical approach. — Oxford. — 1986. — 295 p.

Голубовский М.Д., Беляева Е.С. Вспышка мутаций в природе и мобильные генетические элементы: изучение серии аллелей локуса *singed* у *Drosophila melanogaster* // *Генетика.* — 1985. — Т. 21, № 10. — С. 1662–1670.

Проценко О.В., Козерецька І.А. Мутаційні процеси в природних популяціях *Drosophila melanogaster* України // Збірник наукових праць. — Фактори експериментальної еволюції організмів. — Київ. — 2006. — Т. 3. — С. 49–53.

Проценко О.В., Козерецька І.А. Природні популяції *Drosophila melanogaster* України. Мониторинг мутаційних процесів // Збірник наукових праць. — Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології. — Київ. — 2007. — Т. 1. — С. 288–292.

Юрченко Н.Н., Тэм Л.-Й., О'Хэа, Захаров И.К. Влияние транспозона в локусе *singed* на рекомбинацию у *Drosophila melanogaster* // *Генетика.* — 1997. — Т. 33, № 3. — С. 333–338.

Представлено С.С. Малютою
15.10.2007

ПОШИРЕННЯ Р-ЕЛЕМЕНТА У ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* УКРАЇНИ

О.В. Проценко, Д.І. Козерецька, О.В. Жук, І.А. Козерецька

Київський національний університет імені Тараса Шевченка
Україна, Київ, вул. Володимирська, 64

За допомогою ПЛР-аналізу виявлено наявність копій Р-елемента у геномах *Drosophila melanogaster* із природних популяцій України. Встановлений рівень редукції гонад опосередковано свідчить про відсутність або низьку активність мобільних елементів у вивчених природних популяціях дрозофіл. Знижена частота рекомбінації у самок на ділянці між генами *white* (*w*, 1-1,5) і *cut* (*ct*, 1-20), можливо, є наслідком порушення гомології у відповідних послідовностях гомологічних хромосом, що, в свою чергу, може бути спричинен різною картиною інтеграції копій Р-елемента в Х-хромосомах різних популяцій.

Ключові слова: Р-елемент, *Drosophila melanogaster*.

P-ELEMENT DISTRIBUTION IN UKRAINIAN POPULATIONS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

O.V. Protsenko, D.I. Kozeretska, O.V. Zhuk, I.A. Kozeretska

National Taras Shevchenko University of Kyiv, Volodymyrska st, 64, Kyiv, Ukraine

It was demonstrated using PCR analysis that P-element copies exists in genome of *Drosophila melanogaster* from natural populations of Ukraine. A low level of gonad reduction can be considered as an evidence of absence or low of the mobile element activity in natural populations studied. A reduced level of recombination in females between the genes *white* (*w*, 1-1,5) and *cut* (*ct*, 1-20) indirectly indicates to some violation of homology in the corresponding sequences of homologous chromosomes, that can be a consequence of a different picture of the P-element copies insertion in X-chromosome in different populations.

Key words: P-element, *Drosophila melanogaster*.