

УДК 575.1:595.773.4

С. В. Белоконь, ст. инж.,

В. Н. Тоцкий, д-р биол. наук, профессор, зав. каф.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,  
кафедра генетики и молекулярной биологии,

ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

## КОАДАПТАЦИЯ ГЕНОВ ЛОКУСОВ *cn*, *vg* И *Adh* КАК МЕХАНИЗМ АДАПТАЦИИ МУТАНТОВ *D. melanogaster* Meig.

Изучали степень коадаптированности мутантных генов *cn* и *vg* с аллельными генами локуса *Adh* и влияние мутаций *cn* и *vg*, находящихся в разном генотипическом окружении, на функциональное состояние этого локуса у *D. melanogaster*. Установлено, что в процессе онтогенетической адаптации взаимодействие локусов *vg*, *cn* и *Adh* может осуществляться путем модификации функций продуктов генов *Adh<sup>F</sup>* и *Adh<sup>S</sup>* под влиянием маркерных мутаций, а также выявлена коадаптированность аллельных генов локуса *Adh* и исследуемых маркерных генов.

**Ключевые слова:** дрозофила, мутации, локус *Adh*, сегреганты.

Известно, что плеiotропное действие морфологических мутаций, в частности мутации *vg*, по-разному проявляется в отношении отдельных компонентов приспособленности при изменяющихся условиях окружающей среды и различных состояниях процессов метаболизма.

В связи с этим актуальным остается вопрос о механизмах плеiotропного действия морфологических мутаций, в частности мутаций *cn* и *vg*. Обе мутации, в особенности мутация *vg*, имеют отношение к индивидуальному развитию дрозофилы, к процессам дифференцировки клеток и органогенеза. Мутацию *vg*, нарушающую развитие крыла, можно рассматривать как мутацию одного из многочисленных гомеозисных генов, отвечающих за морфогенез. Известно, что гомеозисные гены кодируют факторы транскрипции, необходимые для нормальной функции многих структурных генов, обеспечивающих синтез ферментов метаболизма и, возможно, факторов регуляции для других генов. Таким образом, плеiotропное действие мутации *vg* можно рассматривать как результат влияния мутировавшего гомеозисного гена на функцию структурных генов, обеспечивающих метаболизм. В этом случае следует ожидать определенного взаимодействия гена *vg* с аллельными генами локуса *Adh*, поскольку алкогольдегидрогеназа — важнейший участник энергетического обмена у *D. melanogaster*.

В соответствии с вышеизложенным, целью данной работы было изучение степени коадаптированности у *D. melanogaster* мутант-

ных генов *cn* и *vg* с аллельными генами локуса *Adh* и выяснение влияния мутаций *cn* и *vg*, находящихся в разном генотипическом окружении, на функциональное состояние этого локуса.

### Материалы и методы исследований

Материалом для исследований служила *Drosophila melanogaster*. В опытах использовали мух диких линий C-S и D, мутантов *cn* (*cinnabar*), *vg* (*vestigial*), сегрегантов гибридных популяций *vg* × *cn*, а также мутантные формы мух, полученные в результате насыщающих скрещиваний, а именно: *cn*(C-S), *vg*(C-S), *cn*(D), *vg*(D). При этом в скобках указана генотипическая среда, в которую помещались гены *cn* и *vg*.

Замещение генотипов путем насыщающих скрещиваний проводили по схеме [1] в условиях направленного отбора на маркерную мутацию в 20-ти поколениях. Таким образом, были получены экспериментальные формы дрозофилы, маркированные по локусам *cn* или *vg*, но с генотипами мух дикого типа (C-S и D).

О степени замещения генотипов судили по частоте аллельных вариантов гена *Adh*, локализованного, как и маркерные гены, в хромосоме 2 дрозофилы. Для определения аллельных вариантов локуса *Adh* в процессе насыщающих скрещиваний индивидуальному электрофоретическому анализу подвергали всех особей, имеющих фенотипические проявления признаков *cn* и *vg* в разных поколениях беккроссов — F<sub>B5</sub>, F<sub>B10</sub>, F<sub>B15</sub>, F<sub>B20</sub>.

Определение электрофоретической подвижности АДГ проводили в пластинах 7,5%-ного полиакриламидного геля стандартным методом с использованием трис-глицинового буфера pH 8,3 [2].

Активность АДГ в экстрактах тканей дрозофилы определяли спектрофотометрически на СФ-26 стандартным методом [3].

Термостабильность АДГ оценивали по остаточной активности фермента после прогревания экстрактов тканей мух в водном термостате при 40°C на протяжении 5 мин и выражали в процентах отношении ферментативной активности прогретого и исходного экстрактов [4].

Равновесность по сцеплению генов локусов *cn*, *vg* и *Adh* определяли в отдельной серии опытов, в которой 5 ♀ *vg* скрещивали с 5 ♂ линии *cn*. Соотношение аллельных генов *Adh<sup>F</sup>* и *Adh<sup>S</sup>* было равным. Поколение F<sub>1</sub> этой баночной популяции представлено гетерозиготами и имело дикий фенотип. 10 ♀ и 10 ♂ этого поколения скрещивали между собой для получения потомков F<sub>2</sub>. Среди последних отбирали сегрегантов с фенотипами *cn* и *vg* (их обозначали как *cn'* и *vg'*) и часть из них (20 сегрегантов *cn'* и 20 сегрегантов *vg'* — по 10 самок и самцов) исследовали электрофоретически на аллозимный состав АДГ. Остальных мух популяции размножали до достижения ими поколения F<sub>6</sub>. Среди потомков F<sub>6</sub> отбирали 20 сегрегантов *cn'* и 20 сегрегантов *vg'* (самцов и самок поровну)

и электрофоретически определяли аллельный состав локуса *Adh*. По результатам электрофореза у анализируемых мух поколений  $F_2$  и  $F_6$  определяли количество гомозигот и гетерозигот по локусу *Adh*, а также соотношение частот аллелей *Adh<sup>S</sup>* и *Adh<sup>F</sup>* у сегрегантов *sn'* и *vg'*. Повторность опыта — десятикратная. Основываясь на результатах этих опытов, оценивали частоту попадания в одну гамету генов *sn* и *Adh<sup>S</sup>*, а также *vg* и *Adh<sup>F</sup>* с целью определения степени равновесности по сцеплению этих генов.

Математическую обработку полученных результатов производили общепринятыми методами вариационной статистики по Стьюденту [5].

### Результаты исследований и их анализ

Изучение функционального состояния ген-энзимной системы алкогольдегидрогеназы (АДГ) (определение электрофоретической подвижности, активности и термостабильности фермента) может представить полезную информацию о взаимодействии исследуемых генов и о модификации этих взаимодействий при изменении структуры генотипа в ходе скрещиваний. В условиях опытов ген *Adh* выступает как модельный жизненно важный структурный ген *D. melanogaster*, аллельное и функциональное состояние которого может существенно меняться при тех или иных структурных изменениях генотипа и указывать тем самым на возможное поведение генов других локусов.

У исходных линейных мух, у мутантов с замещенными генотипами, а также у сегрегантов гибридных популяций *vg* × *sn* исследовали аллельное содержание локуса *Adh*, активность и термостабильность аллозимов алкогольдегидрогеназы.

Индивидуальный электрофоретический анализ генных продуктов локуса *Adh* показал, что мухи линий С-S и *sn* являются гомозиготами по аллельному гену *Adh<sup>S</sup>*, а мухи линий *D* и *vg* — гомозиготами по аллелю *Adh<sup>F</sup>*. В наших опытах у потомков насыщающих скрещиваний осуществлялась постепенная смена аллельного содержания локуса *Adh* при сохранении в хромосоме 2 маркерной мутации *sn* или *vg*. Тот факт, что линейные мухи С-S и *D*, *sn* и *vg* оказались гомозиготами по разным аллельным генам локуса *Adh*, представляется весьма интересным. Известно, что в ходе филогенетической адаптации под давлением разных экологических факторов у мух осуществляется четкий естественный отбор либо *F*-аллеля, либо *S*-аллеля *Adh* [6; 7]. Вероятно, такой отбор происходит и по аллельным генам других локусов, что приводит в конечном итоге к формированию у особой популяции постулированных одним из нас компенсационных комплексов генов [8]. Возможно, в силу именно таких причин сформировались генотипы дрозофилы, гомозиготные по *S*- и *F*-аллелям *Adh* и определенным рецессивным морфологическим мутациям. Результаты исследований пока-

зали, что при насыщающих скрещиваниях мутантов *cn* и *vg* с мухами дикого генотипа *C-S* и *D*, расхождение по разным гаметам генов *cn* и *Adh<sup>S</sup>*, равно как и генов *vg* и *Adh<sup>F</sup>*, осуществляется с некоторым трудом, несмотря на довольно значительное (16,9 сМ) расстояние между локусами *vg* и локусом *Adh* на генетической карте. О замедленном расхождении мутантных генов *cn* и *vg* с "обычными" для них аллелями локуса *Adh* свидетельствует то, что лишь к 15-20 поколениям насыщающих скрещиваний *C-S* × *vg* и *D* × *cn* наблюдалось полное замещение аллеля *Adh<sup>F</sup>* на аллель *Adh<sup>S</sup>* у мутантов *vg* и *Adh<sup>S</sup>* на *Adh<sup>F</sup>* у мутанта *cn* (табл.1).

Таблица 1

**Динамика частоты аллельных вариантов *Adh* в процессе насыщения мутантных генотипов генами линий дикого типа**

n = 30–50

Исследуемые формы	Поколение беккросса (F <sub>в</sub> )	Частота генотипических классов		
		<i>Adh<sup>F</sup>/Adh<sup>F</sup></i>	<i>Adh<sup>F</sup>/Adh<sup>S</sup></i>	<i>Adh<sup>S</sup>/Adh<sup>S</sup></i>
<i>vg(C-S)</i>	5	0,28 ± 0,08	0,52 ± 0,09	0,20 ± 0,07
	10	0,15 ± 0,06	0,48 ± 0,09	0,37 ± 0,09
	15	0,05 ± 0,04	0,40 ± 0,09	0,55 ± 0,09
	20	0	0	1
<i>cn(D)</i>	5	0,20 ± 0,06	0,50 ± 0,01	0,30 ± 0,08
	10	0,50 ± 0,01	0,30 ± 0,08	0,20 ± 0,06
	15	0,50 ± 0,01	0,50 ± 0,01	0
	20	1	0	0

На основании этих опытов мы пришли к выводу о коадаптированности генов *cn* и *Adh<sup>S</sup>*; а также *vg* и *Adh<sup>F</sup>*, т. е. об оптимальном взаимодействии этих неаллельных генов при формировании генотипом компонентов приспособленности. По-видимому, эта коадаптированность обуславливает оптимальный генный баланс и обеспечивается более частым попаданием коадаптированных аллелей разных локусов в одну гамету.

Обобщая результаты проведенных экспериментов и имеющиеся в литературе данные, следует отметить, что если филогенетическая адаптация дрозофилы к постоянно действующим факторам внешней среды осуществляется главным образом путем отбора коадаптированных к данным условиям генов, в т. ч. и различных аллелей локуса *Adh*, то онтогенетическая адаптация осуществляется

преимущественно путем регуляции функций имеющихся в генотипе аллельных и неаллельных генов. Одним из путей такой регуляции является модификация функций продуктов структурных генов применительно к конкретным условиям внешней и внутренней (генотипической) среды.

Результаты настоящих исследований свидетельствуют о том, что свойства продуктов аллельных генов локуса *Adh* могут существенно изменяться в зависимости от генного окружения этого локуса. Так, например, есть основания утверждать, что в условиях насыщающих скрещиваний  $D \times cn$  наиболее вероятна модификация на эпигенетическом уровне аллозима  $Adh^F$  под влиянием мутантного гена *cn*. Не исключено, что мутантный ген *cn*, на который вели отбор потомков насыщающих скрещиваний, в силу плейотропного действия мог выступать геном-модификатором F-аллозима АДГ. Именно к такому выводу пришли В. Н. Тоцкий, Л. В. Левчук и другие авторы [9; 10].

Как известно, коадаптированные гены могут чаще попадать в одну гамету, чем следует ожидать на основании теории вероятности и законов независимого или сцепленного наследования. Такого рода особенности процессов наследования известны под названием ассоциированности признаков и свойств, а совокупность генов, наиболее часто попадающих в одну гамету, составляют так называемый гаплотип [11].

Вероятность такого более частого совместного наследования определенных аллелей локусов *cn*, *vg* и *Adh* демонстрируют результаты исследований, представленные в табл. 2.

Как уже указывалось, суть этих исследований состояла в том, что у мух исходных мутантных линий *cn* и *vg*, а также у их гибридных потомков с фенотипами *cn* и *vg* электрофоретически определяли частоту встречаемости аллельных генов  $Adh^F$  и  $Adh^S$ . Исходную популяцию  $F_0$  создавали из равного количества мух — основателей (самцов и самок) *cn* и *vg*, что обеспечивало практически равное соотношение в  $F_0$  аллельных генов  $Adh^F$  и  $Adh^S$ .

У трехдневных мух первого поколения, имеющих дикий фенотип, содержание аллелей  $Adh^F/Adh^S$  также было одинаковым. В противоположность этому среди сегрегантов  $cn'$  и  $vg'$  последующих поколений по локусу *Adh* встречались генотипы разного строения — гомозиготы  $Adh^F/Adh^F$ , гетерозиготы  $Adh^F/Adh^S$  и гомозиготы  $Adh^S/Adh^S$ . При этом количественное соотношение разных в генетическом отношении гомозигот и соотношение аллельных генов  $Adh^F/Adh^S$  у сегрегантов  $cn'$  и  $vg'$  было различным. У сегрегантов  $cn'$  соотношение  $Adh^F/Adh^S$  с каждым последующим поколением уменьшалось, а у сегрегантов  $vg'$  — увеличивалось. Вследствие этого во всех поколениях у мух с фенотипом *cn* количественно преобладал S-аллель гена *Adh*, а у мух *vg*-аллель  $Adh^F$ . Даже в поколении  $F_6$ , когда теоретически (в силу многократного кроссинговера) можно было бы ожидать значительного выравнивания у гомозигот

*cn cn* и *vg vg* содержания аллельных генов *Adh<sup>S</sup>* и *Adh<sup>F</sup>*, этого не отмечается. Оказалось, что в  $F_6$  среди сегрегантов *cn'* гомозигот *Adh<sup>S</sup>Adh<sup>S</sup>* было больше, чем гомозигот *Adh<sup>F</sup>Adh<sup>F</sup>*. Аллельный ген *Adh<sup>S</sup>* у них составлял 55%, а *Adh<sup>F</sup>* — 45% общего количества генов локуса *Adh*. В противоположность этому, среди сегрегантов *vg'* было выявлено значительно больше гомозигот *Adh<sup>F</sup>Adh<sup>F</sup>*, чем гомозигот *Adh<sup>S</sup>Adh<sup>S</sup>*. Содержание аллеля *Adh<sup>F</sup>* в этом случае составляло 58%, а *Adh<sup>S</sup>* — 42%. Эти результаты совместно с другими данными подтверждают наше предположение о коадаптированности указанных пар неаллельных генов и об ассоциированности их наследования.

Таблица 2

**Наследование аллелей *Adh<sup>S</sup>* и *Adh<sup>F</sup>* при скрещивании линейных мух  $\varnothing$  *vg* × ♂ *cn***

n = 10

Исследуемые мухи (фенотип по признакам <i>cn</i> и <i>vg</i> )	Всего исследовано особей	Выявлено			Соотношение аллелей F/S
		гомозигот <i>Adh<sup>F</sup>/Adh<sup>F</sup></i>	гетерозигот <i>Adh<sup>F</sup>/Adh<sup>S</sup></i>	гомозигот <i>Adh<sup>S</sup>/Adh<sup>S</sup></i>	
Линия <i>cn</i> ( <i>cn</i> +)	10	0	0	100	0 : 1
Линия <i>vg</i> (+ <i>vg</i> )	10	10	0	0	1 : 0
Сегреганты <i>cn'</i> и <i>vg'</i> при скрещивании мутантов: (поколение $F_2$ )					
<i>cn</i> +	20	2	16	2	0,50 : 0,50
+ <i>vg</i>	20	3	15	2	0,53 : 0,47
Сегреганты <i>cn'</i> и <i>vg'</i> при скрещивании мутантов: (поколение $F_6$ )					
<i>cn</i> +	20	4	10	6	0,45 : 0,55
+ <i>vg</i>	20	11	7	2	0,58 : 0,42

Ассоциированность наследования коадаптированных генов может иметь важное значение в процессах филогенетической адаптации, способствуя формированию адаптационных [12] и компенсационных [13] комплексов генов, необходимых для оптимальной приспособленности генотипов и возникновения гетерозиса. Таким образом, установленная коадаптированность аллельных генов локуса *Adh* и определенных маркерных генов углубляет существующие представления о механизмах филогенетической и онтогенетической адаптации и намечает новые методические подходы к изучению взаимодействия генов.

## Выводы

1. Полное замещение аллеля *Adh<sup>F</sup>* на аллель *Adh<sup>S</sup>* у мутантов *vg* и *Adh<sup>S</sup>* на *Adh<sup>F</sup>* у мутанта *cn* наблюдается лишь к 15–20 поколениям насыщающих скрещиваний *C-S* × *vg* и *D* × *cn*.
2. Гены *cn* и *Adh<sup>S</sup>*, а также гены *vg* и *Adh<sup>F</sup>* чаще, чем другие возможные варианты аллелей, попадают в одну гамету. Этот факт, по-видимому, объясняет гомозиготность мух *cn* по гену *Adh<sup>S</sup>*, а мух *vg* — по гену *Adh<sup>F</sup>*.
3. Полученные результаты свидетельствуют о коадаптированности генов *cn* и *Adh<sup>S</sup>*, а также *vg* и *Adh<sup>F</sup>*. Эта коадаптированность определяется неравновесностью по сцеплению этих генов, а также модификацией продуктов аллельных генов локуса *Adh* у мутантов *cn* и *vg* при конкретных условиях генотипической среды.

## Литература

1. Никоро З. С., Васильева Л. А. Проблема изменчивости и отбора по количественным признакам на примере популяции *Drosophila* // Дрозофила в экспериментальной генетике. — Новосибирск, Наука, 1978. — С. 196–243.
2. Ornstein L. Disk electrophoresis. I. Background and theory // Ann. N. Y. Acad. Sci. USA. — 1964. — Vol. 121. — P. 321–349.
3. McKechnie S. W., Geer B. W. // Insect. Biochem. — 1984. — 14, N 2. — P. 231–242.
4. Chambers O. K., Wilks A. V., Gibson J. B. // Biochem. Genet. — 1984. — 22, N 1–2. — P. 153–168.
5. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: Изд-во МГУ, 1980. — 150 с.
6. Хаустова Н. Д. Лocus *Adh* *Drosophila melanogaster* в условиях отбора на задержку старения // Генетика. — 1995. — Т. 31. — № 5. — С. 646–651.
7. Анализ генетической структуры природных популяций дрозофилы, обитающих в районах Беларуси с повышенным радиационным фоном / С. И. Касинская, М. Е. Михайлова, Н. И. Тиханович, Н. А. Камыш // Гигиена населенных мест. — 2000. — Вып. 36. — Ч. II. — С. 64–72.
8. Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации / В. Н. Тоцкий, Н. Д. Хаустова, Н. М. Алшибли, А. Л. Сечняк // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 69–75.
9. Ген-энзимная система алкогольдегидрогеназы при изменениях генотипа у *Drosophila melanogaster* / В. Н. Тоцкий, Н. Д. Хаустова, С. В. Моргун, Л. В. Левчук // Укр. биохим. журн. — 1998. — Т. 70, № 5. — С. 42–51.
10. Хаустова Н. Д., Моргун С. В. Ген-энзимная система АДГ и приспособленность мутантов *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1999. — Т. 35, № 5. — С. 600–605.
11. Патрушев Л. И. Экспрессия генов. — М.: Наука, 2000. — С. 532–534.
12. Тоцкий В. М., Хаустова Н. Д. Ген-энзимна система алкогольдегидрогенази і адаптивна здатність *Drosophila melanogaster* // Укр. биохим. журн. — 1996. — Т. 68, № 3. — С. 62–68.
13. Струнников В. А., Маресин В. М., Степанова Н. Л. Селекция *Drosophila melanogaster* на комбинационную способность // Цитология и генетика. — 1986. — Т. 20, № 1. — С. 3–10.

**С. В. Білоконь, В. М. Тоцький**

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,  
кафедра генетики та молекулярної біології,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

**КОАДАПТАЦІЯ ГЕНІВ ЛОКУСІВ *cn*, *vg* І *Adh* ЯК МЕХАНІЗМ  
АДАПТАЦІЇ МУТАНТІВ *D. melanogaster* Meig.**

**Резюме**

Вивчали ступінь коадаптованості генів мутантів *cn* і *vg* з алельними генами локусу *Adh* і вплив мутацій *cn* та *vg*, що знаходяться в різному генотиповому оточенні, на функціональний стан локусу *Adh* у *D. melanogaster*. Встановлено, що в процесі онтогенетичної адаптації взаємодія локусів *vg*, *cn* і *Adh* може здійснюватися модифікацією функцій продуктів генів *Adh<sup>F</sup>* і *Adh<sup>S</sup>* під впливом маркерних мутацій, а також виявлена нерівноважність по зчепленню алельних генів локусу *Adh* і досліджуваних маркерних генів.

**Ключові слова:** дрозофіла, мутації, локус *Adh*, коадаптація.

**S. V. Belokon, V. N. Totsky**

Odessa National I. I. Mechnikov University,  
Department of Genetics and Molecular Biology,  
Dvoryanskaya Str., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

**LOCUSES GENES COADAPTATION *cn*, *vg* AND *Adh* AS THE  
MECHANISM OF ADAPTATION OF MUTANTS OF *D. melanogaster*  
Meig.**

**Summary**

The degree of coadaptation of mutants genes of *cn* and *vg* with the allelic genes of locus *Adh* and influence of mutations of *cn* and *vg*, having different genotypic surroundings, on the functional state of locus *Adh* at *D. melanogaster* were studied. It is proved that in the process of ontogenetic adaptation interaction of locuses *vg*, *cn* and *Adh* the modification of functions of genes products of *ADHF* and *ADHS* under the influence of the markers mutations can be realized, and the allelic genes locuses *Adh* coadaptation and explored markers genes are also exposed.

**Keywords:** drosophila, mutations, locus *Adh*, coadaptation.