

УДК 577.222:595.773.4

Алшибли Нассер Мухамед, асп.,

Хаустова Н. Д., канд. биол. наук, доц.,

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

Одесский национальный университет, кафедра генетики и молекулярной биологии,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

## ЧАСТОТА РЕКОМБИНАЦИЙ НА УЧАСТКЕ *b-cn-vg* ХРОМОСОМЫ 2 *DROSOPHILA MELANOGASTER* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА И ВОЗРАСТА МУХ

С целью выявления зависимости частоты кроссинговера от генотипа и возраста дрозофилы исследовали мутантов *b cn vg*, линию дикого типа *C-S* и полученную путем возвратных скрещиваний форму с замещенным генотипом *b cn vg (C-S)*. Исследования проводили на мухах 1-12 дневного возраста.

Среди исследованных возрастных групп мутантов *b cn vg* максимальная частота рекомбинаций наблюдается у молодых (1-3 дневных) мух. Замещение генотипа мутантов на генотип *C-S* приводит к повышению рекомбинационной активности взрослых мух (4-9 дневного возраста) до уровня молодых (1-3 дневного возраста). У взрослых мух увеличение частоты кроссинговера на участке *b-cn-vg* при замещении генотипа обусловлено ростом рекомбинационной активности между локусами *b-cn*. Частота двойных кроссоверов у мух с замещенным генотипом возрастает во всех возрастных группах.

**Ключевые слова:** дрозофила, кроссинговер, генотип, возраст

Изучение роли генного баланса в индивидуальном развитии организмов является одной из актуальных проблем современной генетики.

Известно, что все фенотипические признаки организма зависят от большого числа взаимодействующих генов, сбалансированных в процессе эволюции путем образования комплексов генов адаптации [1, 2, 3]. Изменения генотипа отражаются как на отдельных моногенных, так и на сложных интегральных признаках, контролируемых многими генами. Одним из основных источников комбинационной изменчивости является генетическая рекомбинация. Принято считать, что частота кроссинговера в определенных локусах хромосом в значительной степени определяет скорость естественного отбора по соответствующим признакам [1, 3]. В свою очередь генетическая рекомбинация как сложный физиологический, биохимический и физический процесс подвержена влиянию многих факторов внешней и внутренней среды, что свидетельствует о возможности ее направленной регуляции. Для осуществления такой регуляции требуется всестороннее изучение роли конкретных экологических и генетических факторов в изменении частоты кроссинговера.

С целью выявления зависимости рекомбинационной активности от генотипа и возраста особей исследовали частоту кроссинговера на участке *b-cn-vg* в онтогенезе линейных мутантов и у мух экспериментальной популяции *Drosophila melanogaster*, полученной после насыщающих скрещиваний тройных мутантов *b cn vg* с линией дикого типа *Canton-S*.

## Материалы и методы исследования

Для изучения частоты кроссинговера на участке *b-cn-vg* хромосомы 2 *Drosophila melanogaster* использовали мух дикого типа *Canton-S* (*C-S*) и тройных мутантов по локусам *black*, *cinnabar*, *vestigial* (*b cn vg*). Насыщающие скрещивания проводили по следующей схеме: самку дикого типа скрещивали с самцом мутантной линии. В первом поколении скрещивали между собой сибсов, а во втором — отбирали самцов, маркированных по трем генам (*b*, *cn*, *vg*), которых вновь скрещивали с самкой дикого типа. Возвратные скрещивания проводили в 15-ти поколениях. Таким образом была получена экспериментальная популяция мух, маркированных по мутантным локусам *b*, *cn*, *vg*, но с генотипом мух дикого типа — *b cn vg* (*C-S*).

Всех мух, использованных в эксперименте, культивировали в суховоздушном термостате при температуре 24-25°C на стандартной питательной среде в стеклянных сосудах емкостью 200 мл. Исследования проводили на мухах четырех возрастных групп: 1-3 дн., 4-6 дн., 7-9 дн. и 10-12 дн.

Получение тригетерозигот, постановку анализирующих скрещиваний и определение частоты кроссинговера осуществляли в 10-кратной повторности по общепринятым схемам [4, 5].

## Результаты исследований и их анализ

В соответствии с генетической картой хромосомы 2 *D. melanogaster* [5], расстояние между генами *b* и *vg* составляет 18,5 сМ, что отражает частоту перекрестов при трехфакторном анализе с использованием трех маркерных генов — *b*, *cn*, *vg*. При этом на участке *b-cn* частота рекомбинаций равна 9%, а на участке *cn-vg* — 9,5%. Однако частота кроссинговера между двумя генами может быть постоянной лишь при стабильных генотипических и экологических условиях. Поскольку такая идеальная ситуация недостижима, то расстояния между генами на генетических картах могут существенно варьировать и практически никогда не соответствуют физическим расстояниям между этими генами [2, 4].

Как следует из результатов анализирующих скрещиваний (рис. 1), совпадение частот кроссинговера с теоретически ожидаемыми наблюдается у линейных мутантов 7-9 — дневного возраста. У этих мух рекомбинационная активность на участке *b-cn-vg* составляла 18,45%. Практически не отличались от этой возрастной группы мухи 4-6 и 10-12 — дневного возраста ( $p > 0,05$ ). Только у молодых (1-3 дн.) мух рекомбинационная активность значительно (в 1,8 раза) превышала величину кроссинговера, рассчитанную по генетической карте дрозофилы.

Анализ частоты кроссинговера на каждом из исследованных участков (*b-cn* и *cn-vg*) подтверждает факт повышенной рекомбинационной активности у молодых линейных мух (табл. 1), что может быть связано с особенностями молекулярно-генетических процессов у свежевывлупившихся особей. О значительном влиянии функционального состояния организма на процесс кроссинговера свидетельствуют и данные литературы [3, 6, 7].

Изучение влияния изменений генотипа на частоту кроссинговера проводили, используя мутантов с замещенным генотипом *b cn vg* (*C-S*). Сопоставление час-

Таблица 1

Частота кроссинговера (%) на участках *b-cn* и *cn-vg* у исследуемых мутантов *D. melanogaster*

Генотип	Участок хромосомы	Возраст мух, дни			
		1-3	4-6	7-9	10-12
<i>b cn vg</i>	<i>b-cn</i>	15,23±2,48	7,42±1,21*	7,91±1,11*	8,63±1,04*
	<i>cn-vg</i>	18,21±0,81	12,55±1,38*	10,52±1,25*	13,88±1,26*
<i>b cn vg (C-S)</i>	<i>b-cn</i>	16,83±2,00	13,64±1,74**	12,49±1,34**	13,62±1,50**
	<i>cn-vg</i>	15,01±2,21	13,93±1,20	14,08±1,56	12,61±0,97

Примечание:

\* — различия достоверны по сравнению с мухами 1-3 дневного возраста.

\*\* — различия достоверны по сравнению с соответствующим участком у линии *b cn vg*.

тоты кроссинговера у этих мух с соответствующим показателем у исходных мутантов *b cn vg* свидетельствует о важной роли генотипа в рекомбинационной активности исследуемых участков хромосомы 2 у *D. melanogaster*.

Как следует из данных, представленных на рис. 1, у молодых мух, характеризующихся высокой частотой кроссинговера, этот показатель остается на столь же высоком уровне и при насыщении их генотипа генами мух *C-S*.

У 4-6 и 7-9 — дневных мутантов *b cn vg (C-S)* обнаружено достоверное повышение частоты кроссинговера на участке *b-cn-vg* на 38% и 44% соответственно по сравнению с линейными мутантами *b cn vg* тех же возрастных групп.

По-видимому, для взрослых мух исходной линии *b cn vg* характерна большая консервативность рекомбинационных процессов. При этом следует учесть тот факт, что эта линия культивировалась на протяжении многих поколений в стабильных условиях среды и у нее могли сформироваться комплексы генов адаптации, обеспечивающие максимальную приспособленность особей [8-10].

Принято считать [1, 3], что в стабильной генотипической среде после достижения популяцией равновесия естественный отбор способствует увеличению сцепления между взаимодействующими локусами, влияющими на приспособленность. При этом наибольшая приспособленность достигается при минимально возможном уровне рекомбинаций.

В противоположность этому, при высокой гетерозиготности популяций действует отбор, направленный на обеспечение преимущества определенным сочетаниям генов и блоков генов, тем самым нарушая уже сложившийся генный баланс отдельных особей. При этом преимущество получает потомство гетерозигот с повышенной частотой кроссинговера в определенных участках хромосом.

В условиях наших опытов в результате возвратных скрещиваний гомозиготная линия *b cn vg* превратилась в гетерозиготную популяцию *b cn vg (C-S)*. Можно полагать, что проводимый нами искусственный отбор по маркерным мутациям содействовал увеличению частоты рекомбинаций на участке *b-cn-vg* хромосомы 2 дрозофилы.

В связи с вышеизложенным определенный интерес представляет изучение рекомбинационных событий на отдельно взятых участках *b-cn* и *cn-vg*.

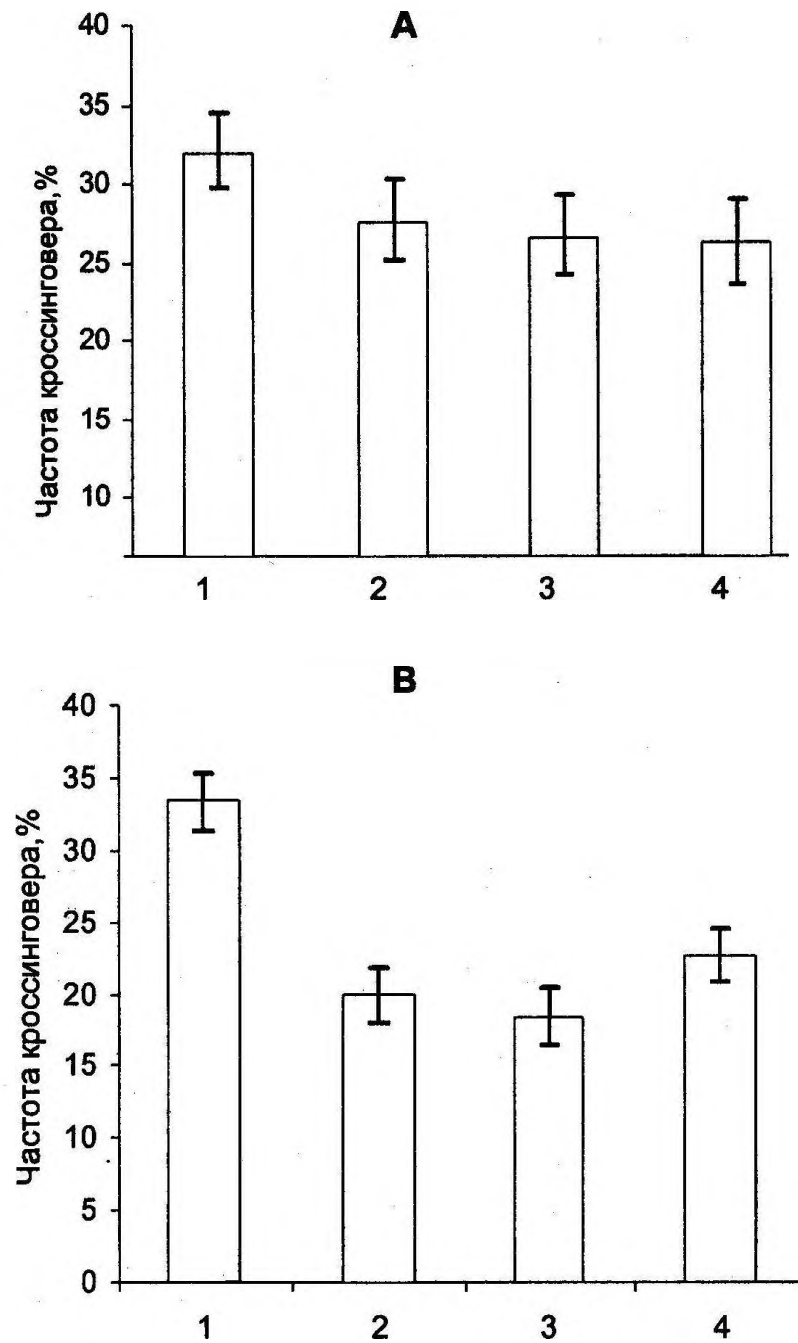


Рис. 1. Частота кроссинговера (%) на участке *b-cn-vg* у различающихся по возрасту мутантов *b-cn-vg* (А) и *b-cn-vg* (C-S) (Б) *D. melanogaster*: 1 — 1-3 дн., 2 — 4-6 дн., 3 — 7-9 дн., 4 — 10-12 дн.

В соответствии с данными, представленными в табл. 1, частота кроссинговера на участке *b-cn* значительно возрастает при замещении генотипа у всех возрастных групп взрослых мух. В противоположность этому между генами *cn* и *vg* не отмечено существенных изменений частоты кроссинговера. Следовательно, увеличение рекомбинационной активности между генами *b* и *vg* у тройных мутантов *b cn vg* (C-S) обеспечивается, главным образом, кроссинговером на участке *b-cn*.

При расчете частоты кроссинговера очень важно учитывать двойные перекресты. Следует отметить, что парное количество перекрестов между двумя генами не приводит к их перемещению из одной гомологичной хромосомы в другую. Поэтому расстояние между этими генами, определенное по частоте кроссинговеров, проявившихся в фенотипе, всегда меньше реального. Учет частоты двойных кроссоверов позволяет уменьшить эту ошибку [2, 4].

На рис. 2 отражена динамика частоты двойных кроссоверов в герантогенезе исходных мутантов *b cn vg* и потомков насыщающих скрещиваний *b cn vg (C-S)*.

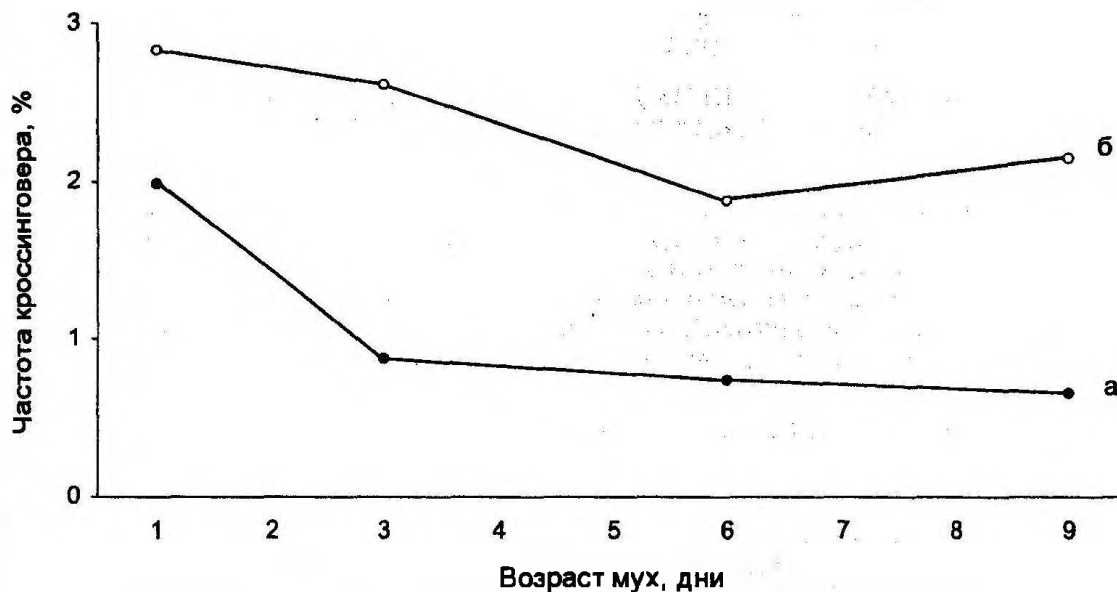


Рис. 2. Динамика частоты двойных кроссоверов в герантогенезе мутантов *b cn vg* и *b cn vg (C-S)*, а — *b cn vg*, б — *b cn vg (C-S)*.

Как следует из представленных данных, частота двойных кроссоверов хотя и значительно меньше по сравнению с частотой одинарных, не менее четко отражает степень рекомбинационной активности исследованных мух на участке *b-vg*. При этом наивысшего уровня эта активность достигает у особей с замещенным генотипом — *b cn vg (C-S)*.

Все вышеизложенное подтверждает мнение о высокой изменчивости частоты кроссинговера в зависимости от генотипа и возраста исследуемых мух.

### Литература

1. Жученко А. А., Король А. Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. — М.: Мир, 1989. — 105 с.
2. Тоцкий В. М. Генетика. — Одеса: Астропринт, 1998. — Т. 1. — 475 с.
3. Жученко А. А., Король А. Б. Увеличение частоты кроссинговера в популяции при отборе на устойчивость к температурным колебаниям // Докл. Акад. наук СССР. — 1983. — Т. 273, № 3. — С. 721-725.
4. Лобашев М. Е. Генетика. — Л.: ЛГУ, 1967. — 718 с.
5. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 293 с.
6. Стент Г., Келиндар Р. Молекулярная генетика. — М.: Наука, 1985. — 50 с.
7. Бердышев Г. Д., Криворучко И. Ф. Медицинская генетика. — К.: Высшая школа, 1992. — 97 с.
8. Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Андриевский А. М. и др. Экспрессивность ген-энзимных систем и

- показатели жизнеспособности в онтогенезе инбредных линий и гибридов дрозофилы // Генетика. — 1990. — Т. 26, № 10. — С. 1791-1799.
9. Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Стрельцова Н. А. Полиморфизм алкогольдегидрогеназы и генотипическая адаптация *D. melanogaster* к действию селективных факторов // Цитология и генетика. — 1995. — Т. 29, № 6. — С. 54 — 59.
10. Хаустова Н. Д., Моргун С. В. Ген-энзимная система АДГ и приспособленность мутантов *Drosophila melanogaster* // Генетика. — 1999. — Т. 35, № 5. — С. 600-605.

**Алшиблі Нассер, Хаустова Н. Д., Тоцький В. М.**

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

**ЧАСТОТА РЕКОМБІНАЦІЙ НА ДІЛЯНЦІ *b-cn-vg* ХРОМОСОМИ 2  
*DROSOPHILA MELANOGASTER* В ЗАЛЕЖНОСТІ ВІД ГЕНОТИПУ ТА ВІКУ МУХ**

**Резюме**

Вивчали частоту кросинговеру на ділянці *b-cn-vg* у лінійних мутантів *b cn vg* та у нащадків ( $F_{15}$ ) від їх зворотних схрещувань з мухами дикого типу — *C-S*. Дослідження проводили в різні періоди онтогенезу мух (1-3, 4-6, 7-9 та 10-12 діб.).

З'ясувалось, що найвища частота рекомбінацій спостерігається у молодих (1-3 денних) мух. Насичення генотипу мутантів *b cn vg* генами мух *C-S* призводить до підвищення рекомбінаційної активності дорослих (4-9 денних) мух до рівня молодих (1-3 денних) особин.

**Ключові слова:** дрозофіла, кросинговер, генотип, вік.

***Al-Shibly Nasser, Khaustova N. D., Totsky V. N.***

Odessa National University, Department of Genetics and Molecular Biology,  
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine.

**RECOMBINATION FREQUENCY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*  
CHROMOSOME 2 IN *b-cn-vg* REGION IN DEPENDENCE OF THE AGE  
AND GENOTYPE**

**Summary**

Influence of age and gene balance on crossing over frequency in *b-cn* and *cn-vg* regions of chromosome 2 has been studied in *Drosophila melanogaster* stock *b cn vg* and experimental population *b cn vg* (*C-S*).

It has been found out that crossing over frequency depends on the age and genotype of the studied flies.

**Key words:** *Drosophila*, crossing over, genotype, age.