

# **ГЕНОМНАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ В ЛИНИЯХ ДРОЗОФИЛЫ С ФАКУЛЬТАТИВНЫМИ ДОМИНАНТНЫМИ ЛЕТАЛЯМИ**

*Федорова Н.Б.*

**Целью работы** являлось исследование нестабильности в линиях *Drosophila melanogaster*, несущих факультативные доминантные летали (ФДЛ).

- В работе были поставлены следующие задачи:
  1. При помощи разработанной методики получить серию мутаций у *Drosophila melanogaster*, содержащих ФДЛ аутосоме 2 и X-хромосоме.
  - 
  2. Описать формы проявления генетической нестабильности у мутантов с ФДЛ.
  3. Изучить нестабильность генома в линиях с ФДЛ путем исследования скоростей транспозиций 412 мобильного элемента в линиях, содержащих и не содержащих факультативные летальные мутации.

# Обнаружение мутаций в X-хромосоме



# Доля дочерей в потомстве мутантного самца в скрещиваниях с самками разных лабораторных ЛИНИЙ

Номер культуры самца	Самки из лабораторных линий:					
	<i>yellow</i>		<i>Berlin wild</i>		<i>Barnaul</i>	
	Всего потомков	Доля самок	Всего потомков	Доля самок	Всего потомков	Доля самок
1	191	0.00	–	–	91	0.02
2	435	0.00	7	0.17	143	0.03
3	180	0.00	18	0.17	146	0.04
4	293	0.00	–	–	135	0.01
5	303	0.02	–	–	143	0.19
6	283	0.02	212	0.31	138	0.03
9	529	0.04	128	0.29	303	0.28
11	409	0.06	223	0.38	178	0.22
26	89	0.01	100	0.22	111	0.23
27	93	0.00	84	0.08	112	0.10
29	61	0.00	64	0.20	113	0.26
30	115	0.00	102	0.33	135	0.17
31	83	0.00	87	0.08	129	0.07
32	117	0.00	140	0.34	80	0.30
33	90	0.00	149	0.28	48	0.27

## Потеря летальности ФДЛ (поддержание в культуре *attached* –X)

Номер культуры	2000 г.		2001 г.		2002 г.		2004 г.	
	Всего потомства	Доля дочерей	Всего потомства	Доля дочерей	Всего потомства	Доля дочерей	Всего потомства	Доля дочерей
1	191	0.00	13	<b>0.46</b>	199	<b>0.42</b>	77	<b>0.52</b>
2	435	0.00	4	0.00	259	0.02	36	0.03
3	180	0.00	20	<b>0.45</b>	311	<b>0.43</b>	95	<b>0.50</b>
5	303	0.02	33	<b>0.45</b>	265	<b>0.60</b>	83	<b>0.41</b>
6	283	0.02	2	0.00	111	0.02	39	0.05
7	100	0.00	3	0.00	44	<b>0.27</b>	63	<b>0.40</b>
8	216	0.07	5	0.00	90	0.09	49	<b>0.14</b>
9	529	0.00	7	0.00	169	<b>0.21</b>	81	0.04
10	297	0.04	7	0.00	69	<b>0.30</b>	57	<b>0.26</b>
11	409	0.06	4	0.00	82	<b>0.18</b>	55	<b>0.16</b>
26	89	0.01	-	0.00	175	0.07	40	0.02
27	161	0.00	29	<b>0.69</b>	113	<b>0.56</b>	92	<b>0.49</b>
29	76	0.00	4	0.00	171	<b>0.54</b>	80	<b>0.51</b>
30	115	0.00	8	0.00	109	0.02	71	0.00
31	189	0.00	8	0.00	138	0.01	70	0.03
32	198	0.00	4	0.00	74	0.00	53	0.02
33	234	0.00	23	<b>0.52</b>	214	<b>0.56</b>	88	<b>0.51</b>
34	198	0.00	-	0.00	62	0.00	54	0.02
35	115	0.04	12	0.00	162	<b>0.13</b>	83	<b>0.48</b>
36	110	0.01	5	0.00	106	0.02	54	0.07
38	84	0.01	3	0.00	80	<b>0.56</b>	51	<b>0.33</b>
41	100	0.01	5	0.00	331	<b>0.49</b>	106	<b>0.52</b>

**Нестабильность** **Непроявление доминантных маркеров  
в оппозитной хромосоме**

Самка  $In(2L+2R)Cy, Cy dp^{lv1} pr Bl cn^2 L^4 sp^2$   
 $l(2)$

х

Самец  $In(2L+2R)Cy, Cy dp^{lv1} pr Bl cn^2 L^4 sp^2$   
 $l(2)$

Скрещивания	Всего потомства	Потомство с потерей проявления доминантных маркеров				
		$Cy Bl$	$Bl L^4$	$Cy$	$Bl$	$L^4$
♀ 37 × ♂ 630	190			2	1	
♀ 44 × ♂ 630	240	1	2			
♀ 53 × ♂ 7	65		2			
♀ 53 × ♂ 37	104			2		
♀ 53 × ♂ 44	81			1		
<b>Внутрилинейные</b> 9	90	7				
37	468		4			
53	176	1				1
62	66			1		

Скрещивание: самок **yellow** с  $l(2)$  7,37,44,53 не дало ни одного исключения на 833 регулярных потомка.

# Потеря X-хромосомы в мейозе

Потомство самок *In(1)Muller-5, w<sup>a</sup> B/l(1)*, содержащих мутацию, в скрещивании с самцами *yellow\**

Номер культуры самца	Фенотипы потомства					Всего потомства	Доля самцов у в потомстве
	Самки		Самцы				
	<i>w<sup>a</sup>B</i>	+	<i>w<sup>a</sup>B</i>	+	<i>y</i>		
1	65	5	56	1	47	174	0.27
2	93	59	80	31	54	317	0.17
3	28	19	32	23	20	122	0.16
5	52	63	60	53	14	242	0.06
6	147	105	102	74	73	501	0.15
7	124	86	64	68	35	377	0.09
8	83	88	72	89	31	363	0.09
9	88	44	37	31	50	250	0.20
10	50	49	51	44	0	194	0.00
11	76	66	72	63	14	291	0.05
27	54	38	36	21	49	198	0.25
29	77	85	44	60	19	285	0.07
30	109	70	85	58	56	378	0.15
31	132	89	83	77	79	460	0.17
32	57	65	57	44	3	226	0.01
33	45	31	53	23	10	162	0.06
34	99	63	42	27	33	264	0.13
35	142	56	85	37	124	444	0.28
36	138	97	98	100	48	481	0.10
38	140	107	119	120	18	504	0.04
41	93	88	66	84	28	359	0.08
Контроль	262	258	178	239	0	937	0.00

*Нестабильность*

## **Потеря X-хромосомы в митозе**





# Морфозы



1. Мутации вызывают появление **НОВЫХ фенотипов** необычного вида (морфозы);
2. Морфозы не наследуются, возникают у части потомков, односторонние, делятся на типы: «+ ткань» и «- ткань».
3. Причина морфозов генетическая, но они развиваются по типу соматических мозаичных дефектов развития.

**Четыре зачаточных крыла справа**



## Некроз хоботка и ног



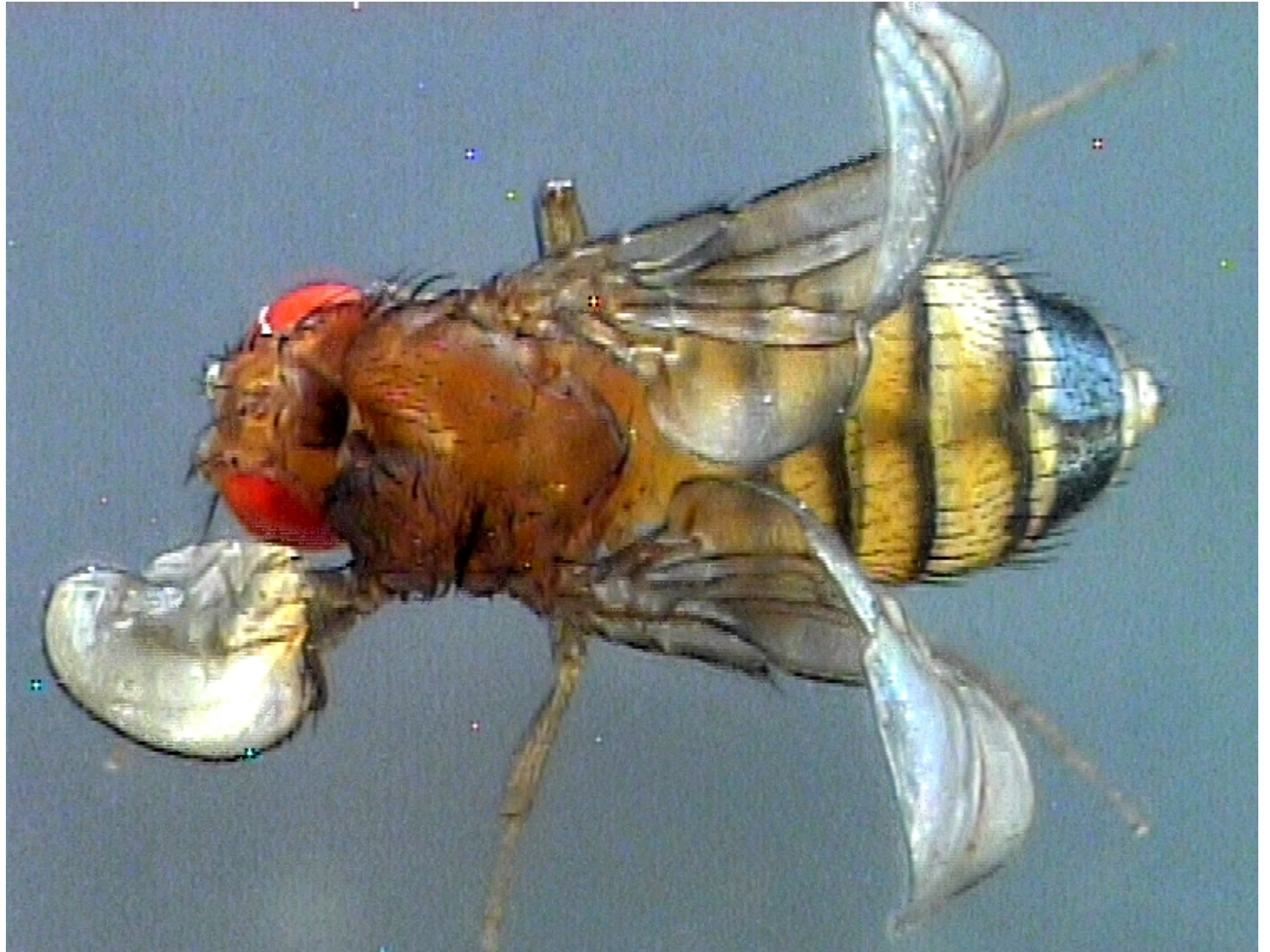
# Две головы



## Удвоение половой пластинки у самца



# Дополнительный торакс с крылом



## Поворот брюшка на 180 градусов



Нестабильность

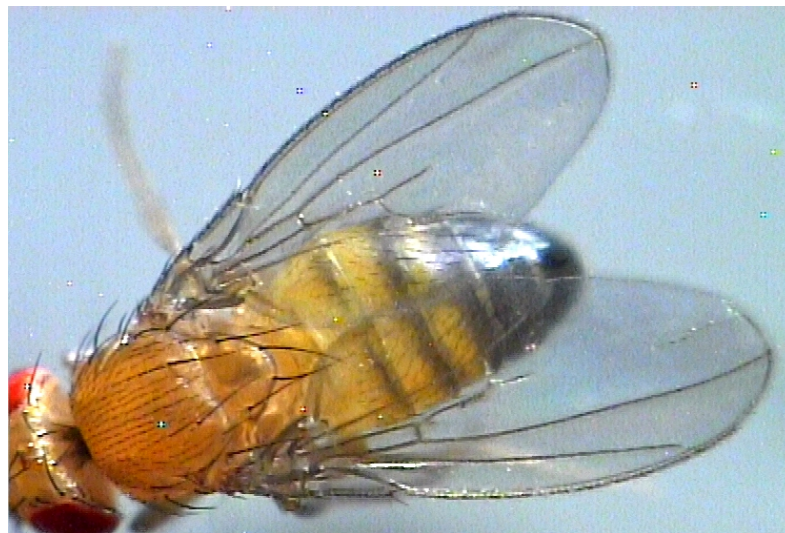
## Мутации с полной пенетрантностью





*Нестабильность*

## Мутации с неполной пенетрантностью



*Нестабильность*

# Одновременное появление набора мутаций



## Массовые модификации

«карлик»



вертикально изогнутые крылья



«black»



редукция крыльев



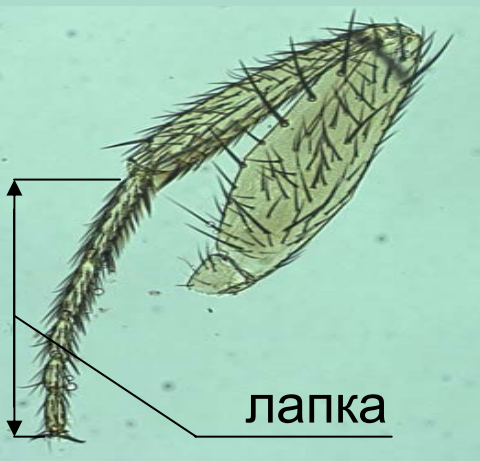

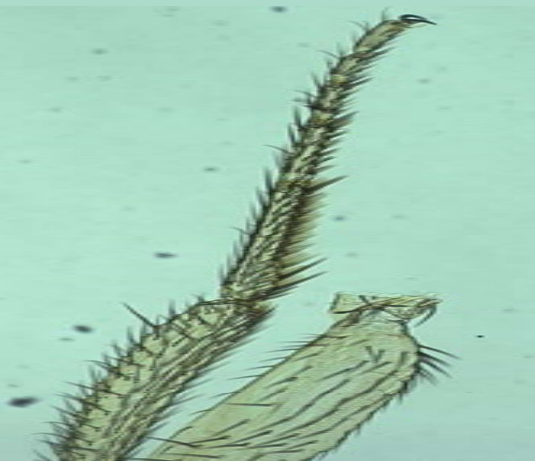
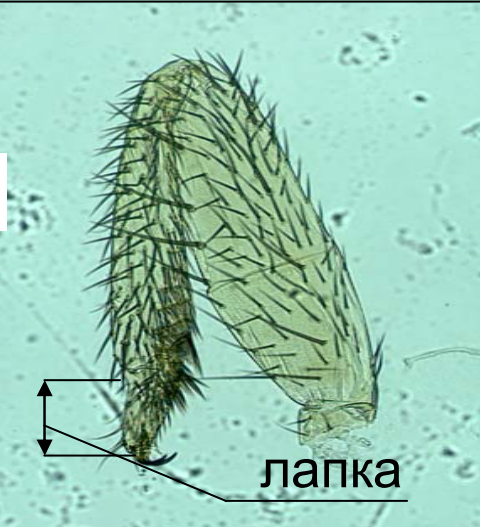


# Фенотип диморфной мутации 7 ( самка «коротконожка» )



# Самка «коротконожка» линии 7



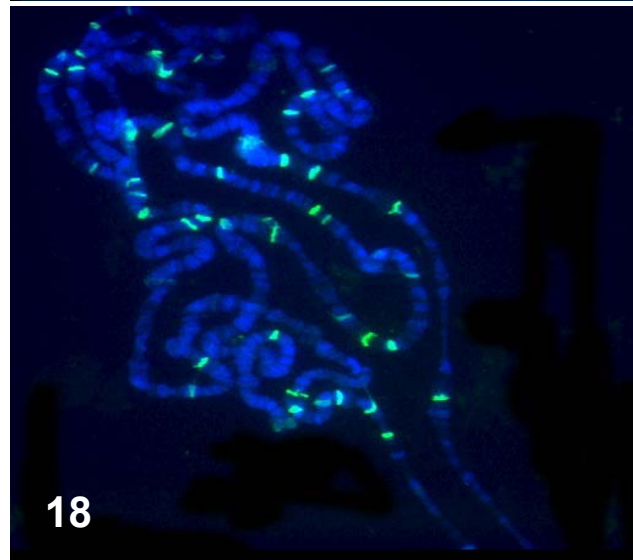
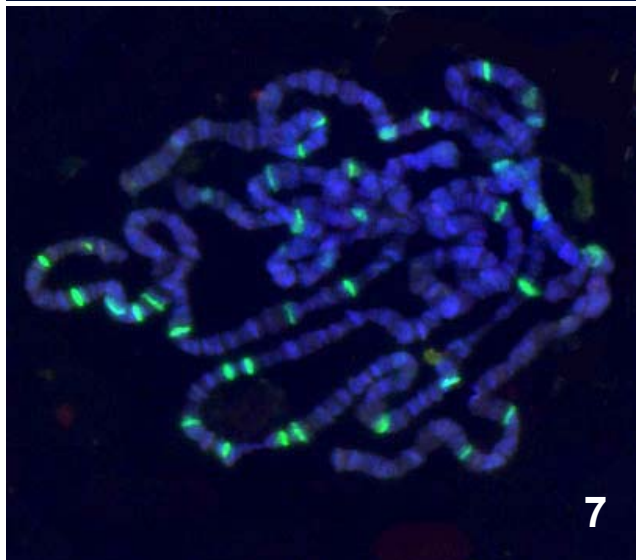
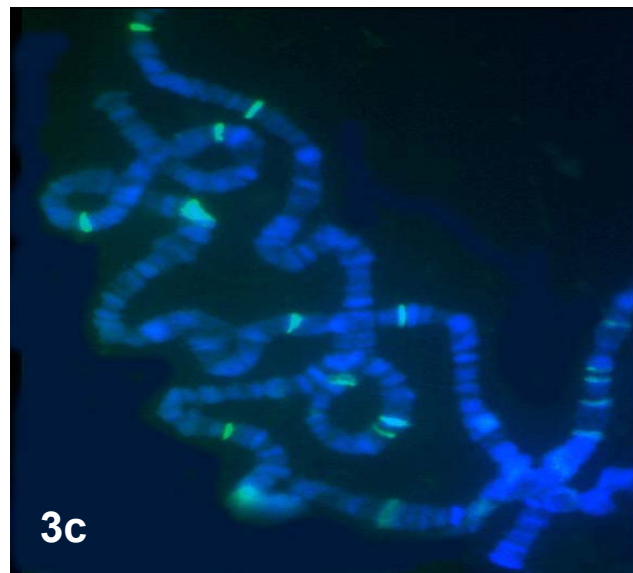
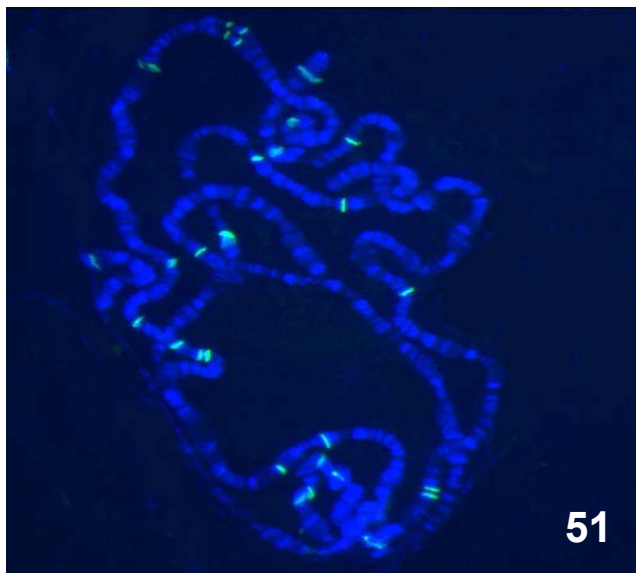
# Деформация лапок у самок линии 7

	1 пара	2 пара	3 пара
норма	 <p>лапка</p>		
линия 7	 <p>лапка</p>		 <p>спутник</p>

**Фенотип диморфной мутации 18  
(прерывистость радиальной жилки у самок)**



Расположение 412 элемента (метка зеленого цвета) на политенных хромосомах в линиях 51,3С,7 и 18.





# Рисунок расположения 412 элемента в линиях 51, 3С, 7, 18

Сайты		51	3С	7	18
X	6F	+	+	+	+
	16F	+	+	+	+
	17C	+	+	+	+
	19A	+	+	+	+
	20A	-	+	-	+
	20B	+	-	+	+
2L	21D	+	+	+	+
	25A	+	+	+	-
	25F	+	+	*(2)	+
	26C	+	+	*(7)	-
	30B	+	+	+	+
	32D	+	+	+	-
	34A	+	-	*(5)	-
	35B	-	+	+	-
	37C	-	*(2)	-	-
	37D	-	-	*(1)	-
	40CD	-	-	-	+

Сайты		51	3С	7	18
2R	41AB	+	+	+	-
	42A	-	+	-	+
	42B	-	+	*(5)	+
	42E	+	+	*(2)	-
	42F	+	+	*(2)	-
	43A	-	+	*(3)	-
	43F	-	+	*(4)	+
	45D	-	+	+	-
	47A	-	-	+	-
	47B	-	+	-	+
	47D	-	+	-	-
	49D	+	+	+	-
	50F	-	-	*(9)	+
	55D	-	-	+	+
	56A	-	-	+	+
	56F	-	-	+	+
	57F	-	-	+	-
	58C	-	+	*(3)	+
	58F	-	+	-	+
	59F	-	-	*(9)	-
60C	+	+	-	-	

# Рисунок расположения 412 элемента в линиях 51, 3С, 7, 18

Сайты		51	3С	7	18
3L	64A	+	+	-	-
	64B	-	-	-	+
	64F	-	-	*(2)	-
	65A	-	-	*(9)	-
	65E	+	+	-	+
	65F	-	-	*(3)	-
	66A	-	-	+	*(5)
	67D	+	+	*(3)	+
	69C	-	-	*(4)	*(5)
	70A	-	+	*(4)	*(5)
	70D	-	-	*(7)	-
	70E	-	+	*(4)	*(5)
	71A	-	-	*(1)	-
	73C	-	-	-	*(5)
	74A	-	+	*(6)	*(5)
	75A	+	*(3)	+	*(5)
	76A	+	+	+	+
	77E	-	*(4)	-	*(5)
	79C	-	+	*(4)	*(5)
	80BC	+	+	*(6)	*(5)

Сайты		51	3С	7	18
3R	82A	-	+	*(4)	*(5)
	82E	+	+	+	+
	83D	-	-	*(2)	-
	84A	-	-	*(4)	*(5)
	84D	+	+	+	+
	85D <sup>1-2</sup>	-	-	*(3)	*(5)
	85D <sup>17</sup>	+	+	+	+
	86F	-	-	*(3)	-
	87B	-	-	-	*(5)
	87D	-	-	*(5)	*(5)
	88A	-	-	*(2)	-
	88B	-	-	*(5)	*(5)
	88C	-	-	*(5)	*(5)
	88E	+	+	+	+
	88F	+	+	+	+
	90B	+	+	+	+
	91B	-	-	*(1)	-
	96A	+	+	+	-
	97E	-	+	+	+
	98E	+	+	-	-
99A	+	+	-	-	
99B	+	+	*(6)	*(5)	

Числа инсерционных (новых) и эксцизионных (утраченных) позиций МЭ 412 при изогенизации линии *forked* и в диморфных линиях с ФДЛ

Номера исследованных линии	Изогенизация (контроль – гетерог.)		Исследованные линии (контроль - 51)			Исследованные линии (контроль - 3С)	
	№3	№5	№3С	№7	№18	№7	№18
Число новых позиций	15***	11**	7	15**	6	13***	5
Число утраченных позиций	3	5	2	5	13**	12**	17***
Всего позиций в линии	48	42	50	64	49	64	49

Примечание. Достоверные отличия по Фишеру (Fφ): \*\*P>0,99, \*\*\*P>0,999.

- **Выводы:**
- **1.** С использованием новой методики у *Drosophila melanogaster* получены серии факультативных доминантных летальных мутаций (ФДЛ) в X-хромосоме и аутосоме 2.
- **2.** Мутации в X-хромосоме проявляют себя как доминантные летали в скрещивании мутантного самца с самками линии *yellow*: в их потомстве не возникает дочерей. В обратном скрещивании образуются все ожидаемые классы потомства в нормальном соотношении.
- **3.** Летальный эффект мутаций в аутосоме 2 проявляется у обоих полов при скрещивании самцов, несущих ФДЛ, с самками линии *yellow*. Поэтому мутации существуют только в культурах, где оппозитная аутосома 2 содержит инверсионный комплекс *Curly*.
- **4.** Линии с ФДЛ генетически нестабильны. Нестабильность проявляется в:
  - 1) утрате летальности;
  - 2) потере проявления доминантных маркеров в оппозитной хромосоме;
  - 3) нестабильности хромосомного набора генома;
  - 4) образовании нарушений индивидуального развития (морфозов);
  - 5) появлении модификаций и вторичных мутаций.
- **5.** Получено несколько линий с видимым мутантным проявлением. Они диморфны: самки имеют мутантный фенотип, а самцы - нормальный. Диморфные линии также генетически нестабильны. Цитологический анализ показал отсутствие в диморфных линиях хромосомных перестроек.
- **6.** Генетическая нестабильность на молекулярном уровне, исследованная в двух диморфных линиях, выражается в массовых перемещениях ретротранспозона 412. По частотам транспозиций линии достоверно отличаются от исходной и контрольной линий: одна диморфная линия - по инсерциям, другая - по эксцизиям.
- **7.** Полученные данные позволяют предполагать, что состояние генетической нестабильности вызвано образованием мутаций в регуляторных генах, управляющих онтогенезом. Нестабильное состояние генома на молекулярном уровне подтверждается активацией перемещения мобильного элемента 412.