

Узагальнено результати власних досліджень по вивченню генетичних механізмів онтогенетичної і філогенетичної адаптації. На прикладі популяції дрозофіли показано, що адаптація до умов зовнішнього середовища супроводжується формуванням у особин специфічних щодо селективних чинників адаптаційних комплексів генів (АКГ), які визначають адаптаційний потенціал генотипів за конкретних умов існування.

Results of the scientific research of genetic mechanisms of ontogenetic and philogenetic adaptation are summarized. The evidence are presented that in the adaptation of *Drosophila melanogaster* to environmental conditions the sets of coadaptation alleles – adaptation complexes of genes (ACG), which are specific to the selective factors, are formed in persons of the population.

ХАУСТОВА Н.Д., БЛОКОНЬ С.В., ТОЦЬКИЙ В.М.

Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова,

Україна, 65026, Одеса, вул. Дворянська, 2, e-mail: caphgen@ukr.net

ПРИСТОСОВАНІСТЬ МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ШТУЧНОГО ЗАМІЩЕННЯ ХРОМОСОМ

Широке застосування в генетиці індукованого мутагенезу, впровадження генно-інженерних та інших біотехнологічних методів збуджує інтерес до проблеми вивчення адаптивних здатностей генетично модифікованих генотипів. В усіх випадках, коли гени взаємодіють у зміненому генетичному середовищі, це може істотно впливати на реалізацію генетичної інформації, включаючи становлення таких складових пристосованості як плодючість, життєздатність, тривалість життя та ін. Слід зазначити, що вивчення функцій окремих генів у зміненому генофоні сприяє поглибленню і конкретизації відомих теорій і гіпотез про коадаптовані гени [1, 2], компенсаційні [3] та адаптаційні [4] комплекси генів тощо. На жаль, інформації про те, як впливають на зазначені блоки і комплекси генів природні і штучні перебудови генотипів, дуже мало. Спрогнозувати ці можливі зміни при створенні нових генотипів важливо, але дуже складно, бо на сьогодні спільний вплив окремих алелів генів власних і чужорідних хромосом на пристосованість штучно синтезованих генотипів залишається мало з'ясованим. Дані про негативний вплив гібридного дисгенезу, а також деяких маркерних мутацій [5] на адаптивний потенціал організмів добре відомі, але вони не систематизовані й не вирішують проблему в цілому.

Таким чином, вивчення пристосованості та її складових на об'єктах із штучно зміненими генотипами, що є метою даної роботи, являє собою актуальну і практично важливу проблему.

Матеріали і методи

Досліди провадили на лінійних та експериментально отриманих формах *Drosophila melanogaster* із заміщеними хромосомами. Із вихідних лабораторних ліній (*C-S*, *cn*, *vg* і *b cn vg*) спершу отримували інбредні лінії шляхом довготривалого (понад 20 поколінь) інбридингу. Заміщення хромосоми 1 у вихідних мутантів на відповідну хромосому мух дикого типу (*C-S*) здійснювали за схемою [6].

Пристосованість лінійних мутантів та мух з модифікованими генотипами оцінювали, визначаючи основні компоненти цієї ознаки: реальну плодючість, тривалість життя, а також здатність виживати в екстремальних умовах (за гіпертермії та у відсутності корму). Реальну плодючість оцінювали по кількості нащадків (імаго) однієї пари мух, що утримувалася в пробірці (20 мл) протягом трьох діб [7]. Для визначення здатності мух виживати в умовах гіпертермії їх прогрівали 15 хв при 41 °С

(Lt_{50} для мух дикого типу), після чого через добу вираховували відношення (відсоток) живих мух до загального числа прогрітих [8]. Виживання досліджуваних дрозофіл в умовах голоду визначали, утримуючи мух у пробірках без корму і підраховуючи через кожні 3 години живих комах. Результати виражали кількістю годин, необхідних для загибелі 50% особин. Тривалість життя комах за утримання їх на стандартному середовищі визначали в днях, на які випадала загибель 50% мух [9]. Математичну обробку отриманих результатів провадили загальноновизнаними методами варіаційної статистики [10].

Результати та обговорення

Внаслідок проведених експериментів встановлено, що досліджувані лінії мух за станом окремих компонентів пристосованості (плодючості, теплостійкості, тривалості життя тощо) можна поділити на добре пристосованих (*C-S*, *cn*) і погано пристосованих (*vg*, *b cn vg*). Найкраще пристосованими виявилися мухи дикого типу *C-S*. Їх плодючість, виживання в умовах гіпертермії, а також тривалість життя за стандартних умов утримання були досить високими і в подальших дослідженнях використовувалися як контроль. Близькими до мух *C-S* за показниками пристосованості виявилися мутанти *cn*. Найнижчий рівень пристосованості за більшістю показників цієї ознаки виявлено у мух *vg* і *b cn vg* (табл.).

Таблиця

Показники пристосованості вихідних ліній дрозофіли і форм з експериментально модифікованими генотипами

Досліджувані генотипи	Плодючість, кількість нащадків однієї батьківської пари	Тривалість життя за стандартних умов утримання (Lt_{50}), дні	Тривалість життя за умов голодування (Lt_{50}), години	Теплостійкість, %
<i>C-S</i>	49,01 ± 3,21	11,99 ± 0,85	42,98 ± 2,21	50,08 ± 1,32
<i>cn</i>	46,92 ± 3,65	11,24 ± 0,56	36,04 ± 1,51*	51,18 ± 1,45
<i>vg</i>	32,72 ± 2,09*	6,38 ± 0,26*	58,20 ± 2,22*	28,82 ± 0,98*
<i>b cn vg</i>	23,87 ± 1,15*	6,31 ± 0,57*	42,02 ± 1,74	42,95 ± 1,80*
<i>cn</i> (1 <i>C-S</i>)	42,02 ± 3,34	11,76 ± 1,01	37,83 ± 1,82	44,99 ± 1,76*#
<i>vg</i> (1 <i>C-S</i>)	32,35 ± 2,07*	10,00 ± 0,78#	38,94 ± 2,09#	24,71 ± 1,05*#
<i>b cn vg</i> (1 <i>C-S</i>)	24,20 ± 1,71*	7,34 ± 0,66*	47,31 ± 1,67*#	50,29 ± 1,37#

Примітки: * - достовірно в порівнянні з мухами *C-S* ($p < 0,05$)

- достовірно в порівнянні з відповідною мутантною лінією ($p < 0,05$)

Виразна негативна дія мутації *vg* виявлялась за ознакою плодючості – показником, який в першу чергу обумовлює відносну пристосованість популяції. Крім того, мухи, що мали цю мутацію, були більш чутливими до гіпертермії і виявляли скорочені строки життя за нормальних умов утримання. В той же час мутація *vg* виявилась корисною за повного голодування дрозофіли. Як видно з таблиці, мухи, що утримують мутацію *vg*, у відсутність корму виживають значно краще, ніж мухи лінії *cn*, і не поступаються за цією ознакою мухам дикого типу *C-S*. Позитивний вплив мутації *vg* в умовах голоду, можливо, пояснюється тим, що у відсутність корму у мутантів

зменшується ймовірність накопичення токсичних попередників пурина, синтез якого у цих мух порушений [11].

Є підстави вважати, що штучні втручання в структуру генотипів, включаючи заміщення хромосом, можуть призводити до істотних змін генного балансу, а отже, і пристосованості створених генотипів. Зменшення пристосованості синтезованих генотипів може пояснюватись як порушенням взаємодії генів, так, можливо, і несумісністю внесених генів з цитоплазмою донора [12].

Із наведених даних видно, що за введення в каріотип мух *sn* хромосом лінії дикого типу спостерігається зменшення теплостійкості мух. Заміщення хромосоми 1 мух *vg* на гомологічну хромосому мух дикого типу призводить до погіршення їх теплостійкості і стійкості до голодування.

В той же час матеріали таблиці свідчать про те, що структурні перебудови генотипу мутантів *b sn vg* шляхом введення в нього чужорідного генетичного матеріалу не тільки не призводять до погіршення показників пристосованості мух, але і поліпшують їх стійкість до екстремальних умов (голодування, гіпертермії). Можна припустити, що суміщення в одному генотипі генів мутанта *b sn vg*, який відзначається низькою життєздатністю, з генами мух лінії *C-S* виявляє позитивний вплив на окремі складові пристосованості мутантних особин завдяки високому адаптивному потенціалу генів дикого типу. Можливо, з цієї ж причини заміщення хромосоми 1 у короткоживучих мух *vg* на гомологічну хромосому мух дикого типу призводить до підвищення тривалості їх життя за стандартних умов утримання.

Найменш мінливим в умовах дослідів виявився найважливіший показник пристосованості – плодючість особин. Мутанти із заміщеною хромосомою мали таку ж плодючість, як і мухи вихідних мутантних ліній, незалежно від рівня цієї ознаки у останніх. Зрозумілим є той факт, що заміщення хромосоми 1 у добре пристосованих мух лінії *sn* на гомологічну хромосому так само добре пристосованих мух дикого типу не призвело до зміни їх плодючості. У модифікованих мутантів – *vg* (1 *C-S*) і *b sn vg* (1 *C-S*) – також не виявлено зміни плодючості порівняно з показниками цієї ознаки у вихідних лінійних мутантів. Якщо припустити, що головною причиною низької плодючості мух, мутантних по локусу *vg*, є плейотропний вплив маркерної мутації [11 – 16], то стає зрозумілою відсутність істотного ефекту на цей показник введених у генотип інших генів дикого типу.

Таким чином, наведені дані переконують у тому, що поєднання в каріотипі хромосом різного походження само по собі може спричинити значні, як негативні, так і позитивні зміни окремих показників пристосованості. Поява чужих хромосом у каріотипі може призводити до змін адаптивної здатності організму не тільки завдяки введенню в генотип чужорідних алельних генів, але й у зв'язку із змінами генного балансу при заміщенні хромосом. Спрямованість і рівень цих змін залежать від рівня коадаптованості генів і збалансованості геномів донора і реципієнта.

Висновки

Поєднання в каріотипі дрозофіли хромосом різного походження спричиняє значні як негативні, так і позитивні зміни пристосованості, які залежать від генотипу досліджуваних особин.

Внесення чужорідних хромосом у каріотипи мутантів супроводжується достовірними зрушеннями показників теплостійкості, стійкості до голоду та тривалості життя особин в окремих варіантах досліду, але не впливає на показник реальної плодючості досліджуваних мух.

Література

1. Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика. – М.: Мир, 1987. – Т. 1. – 295 с.
2. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений. – Кишинев: Штиинца, 1980. – 583 с.

3. 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.
4. Тоцький В.Н., Хаустова Н.Д., Алишбли Н.М., Сечняк А.Л. Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации // Цитология и генетика. – 2002. – Т. 36, № 3. – С. 69 – 75.
5. Soliman M.N. Effect of Ebony and Yellow mutants of *Drosophila melanogaster* on adult survival and alcohol dehydrogenase activity // Gerontology (Schweiz). – 1987. – Vol. 33, № 2. – P. 57 – 63.
6. Luckinbill L.S., Graves J.L., Reed A.H., Koetsawang S. Localizing genes that defer senescence in *Drosophila melanogaster* // Heredity. – 1988. – V. 60, № 3. – P. 367 – 374.
7. Хаустова Н.Д. Локус *Adh* *Drosophila melanogaster* в условиях отбора на задержку старения // Генетика. – 1995. – Т. 31, № 5. – С. 646 – 651.
8. Некрасова А.В., Шахбазов В.Г. Длительность онтогенеза и возрастные изменения плодовитости и теплоустойчивости *Drosophila melanogaster* в связи с эффектом гетерозиса // Цитология и генетика. – 1981. – Т. 15, № 3. – С. 49 – 53.
9. Dorado D., Barbancho M. Differential responses in *Drosophila melanogaster* to environmental ethanol: modification of fitness components at *Adh* locus // Heredity. – 1984. – Vol. 53, № 2. – P. 309 – 320.
10. Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии. – М.: Изд-во МГУ, 1980. – 150 с.
11. Williams J.A., Bell J.B., Carrol S.B. Control of *Drosophila* wing and halter development the nuclear vestigial gene product // Gene and Develop. – 1991. – Vol. 5, № 12 B. – P. 2481 – 2495.
12. Кирпиченко Т.В., Страшнюк В.Ю., Воробьева Л.И., Шахбазов В.Г. Влияние генотипа на экспрессивность признака *vestigial* и степень политемии хромосом *Drosophila melanogaster* Meig. // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 12. – С. 1621 – 1625.
13. Хаустова Н.Д., Тоцький В.М. Пристосованість мутантів *vg* *Drosophila melanogaster* і генетична структура штучних популяцій, що містять маркерний ген // Вісник Одеського національного університету. – 2004. – Т. 9. – Вип. 5. – С. 153 – 158.
14. Хаустова Н.Д., Тоцький В.М. Пристосованість мутантів *vg* *Drosophila melanogaster* і генетична структура штучних популяцій, що містять маркерний ген // Вісник Одеського національного університету. – 2004. – Т. 9. – Вип. 5. – С. 153 – 158.
15. Тоцький В.Н., Хаустова Н.Д., Левчук Л.В., Моргун С.В. Генотипические основы низкой жизнеспособности мутантов *vestigial* *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 1998. – Т. 34, № 9. – С. 1233 – 1238.
16. Левчук Л.В., Тоцький В.М. Заміщення хромосом і пристосованість генотипів *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. – 1998. – Т. 32, № 2. – С. 42 – 48.

Резюме

Досліджували стан компонентів пристосованості у вихідних лінійних мутантів (*cn*, *vg*, *b cn vg*) і у експериментально отриманих форм *Drosophila melanogaster*, які несуть хромосому 1 мух дикого типу (*C-S*). Встановлено, що штучне об'єднання у генотипі хромосом різного походження може спричинити значні, як негативні, так і позитивні зміни пристосованості, що суттєво впливає на адаптивний потенціал особин.

Изучено состояние компонентов приспособленности у исходных линейных мутантов и у экспериментально полученных форм *Drosophila melanogaster*, несущих хромосому 1 мух дикого типа. Установлено, что искусственное объединение в генотипе

хромосом разного происхождения может вызывать как негативные, так и позитивные изменения приспособленности, существенно влияя на адаптивный потенциал особей.

The state of fitness components for different mutant lines (*cn*, *vg*, *b cn vg*) *Drosophila melanogaster* upon carried out modification of the genotype are studied. It was determined that displacement of the mutant's chromosome 1 on a homologous chromosome of flies *C-S* leads to improve the separate studied parameters of fitness components for the mutants are obtained.

ШИЛИНА Ю.В.¹, ГУЩА Н.И.¹, ДЯЧЕНКО А.И.¹, МОЛОЖАВАЯ О.С.², ОВСЯННИКОВА Л.Г.¹, ДМИТРИЕВ А.П.¹

¹Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины, Украина, 003680, Киев, ул. Заболотного, 148, e-mail: j.shilina@gmail.com

²Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Украина, 003022, Киев, пр. Глушкова 2

ЭКСПРЕССИЯ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ КАК АДАПТИВНАЯ РЕАКЦИЯ У БАКТЕРИЙ

Техногенные изменения окружающей среды вызывают множественные модификации свойств микробиоты – стимуляцию развития патогенных микроорганизмов, изменение их персистентных характеристик, приобретение ими способности поражать неспецифических хозяев [1]. В основе таких изменений лежит способность микроорганизмов к адаптации. Так, в настоящее время патогенность и ее качественную характеристику вирулентность рассматривают как функцию способности бактерий адаптироваться к организму хозяина [2].

Адаптация как процесс приспособления патогенных микроорганизмов к действию экзогенных стрессовых факторов может достигаться либо путем изменения параметров внешней среды (подавление защитных реакций хозяина, повышение доступности веществ хозяина как источников питания) либо путем изменения параметров внутренней среды (стимуляции репарационных систем патогена, экспрессии различных факторов патогенности (экзоферментов, токсинов) и др.).

В основе процессов приспособления микроорганизмов к условиям абиотической среды и организма хозяина лежит регуляция экспрессии их генов и генных комплексов. Известно, что клетки микроорганизмов могут специфически распознавать различные метаболиты хозяина, что является сигналом для активации их генов вирулентности. На экспрессию отдельных генов или их комплексов у патогенных бактерий оказывает влияние ряд факторов: температура, концентрация в среде различных органических и неорганических компонентов (различные олигосахаридные соединения, неорганические ионы Fe^{3+} , Ca^{2+}), осмолярность среды, pH, pO_2 , pCO_2 , концентрация бактериальных клеток (регуляция через медиаторы «эффекта кворума») [3, 4]. Распознавание химических сигналов происходит благодаря наличию у бактерий специфических рецепторов, связанных с системами трансдукции сигналов для активации транскрипции генов. Считается, что физические факторы действуют на бактерии также через соответствующие рецепторы непосредственно или путем изменения химического состава среды [2].

При достижении стрессовыми факторами определенного дозового порога они могут оказывать неспецифическое повреждающее воздействие на клетки, в частности, на их ДНК. При этом разные факторы могут вызывать сходные нарушения. Клетки способны реагировать на повреждения ДНК и запускать системы их репарации.