

ИСТОЧНИКИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

И.К. Захаров, О.В. Ваулин, Ю.Ю. Илинский, Я.Я. Синянский,
Ю.А. Коромыслов, Л.В. Коваленко, А.В. Иванников, Л.П. Захаренко,
М.А. Волошина, С.В. Чересиз, Н.Н. Юрченко

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: zakharov@bionet.nsc.ru

Генетическая изменчивость популяций складывается из двух взаимосвязанных компонент: 1) накопленная и поддерживаемая в популяции генетическая изменчивость (генетический полиморфизм); 2) постоянно возникающие *de novo* мутации (собственно мутационный процесс, который характеризуется спектром мутаций и скоростью мутирования), которые в ходе эволюции и порождают, и обогащают генетический полиморфизм. Методы и подходы к изучению этих двух составляющих различны. Подчеркивается, что если существующий в популяции генетический полиморфизм (на морфологическом, биохимическом или молекулярном уровне) можно описать как набор аллелей и соответствующих им частот, то вычленив из него мутационную компоненту (возникшие *de novo* мутации) непосредственно удается не всегда. Как правило, оценка мутационного процесса более трудоемка и требует специальных экспериментальных исследований и подходов. Кроме того, спектр и частоты аллелей в популяции не описывают в полной мере генетическую изменчивость этой популяции, но являются лишь исходным материалом для ее формирования, который сложным образом рекомбинируется и преумножается в процессах размножения клеток и развития многоклеточного организма, а также в процессах популяционной динамики (то, что обычно называется микроэволюцией).

Генетическую изменчивость определяют: 1) варьирующая экспрессия генов в зависимости от условий среды и эпигенетических факторов; 2) комбинативная изменчивость; 3) все типы рекомбинации; 4) дрейф генов, межпопуляционный поток генов и возможный горизонтальный перенос генов. Однако этим процессы формирования генетической изменчивости далеко не исчерпываются.

При сравнительном анализе полиморфизма часто возникает проблема экстраполяции выводов, полученных для определенного признака или их набора, на полиморфизм других признаков или генофонда популяции в целом. Оценка степени изменчивости признака во многом зависит как от самого анализируемого признака, так и от применяемого метода оценки его полиморфизма.

Открытие генетической локус-специфической нестабильности – повышенной мутабельности отдельных локусов – послужило основанием сначала предположить, а затем и связать такую генетическую нестабильность с предсказанными Б. Мак-Клинтоком мобильными элементами, существование которых затем было доказано молекулярно-генетическими методами. Длительное сохранение свойств высокой мутабельности может быть следствием следующих причин: 1) мутабельность в локусе есть специфическое свойство взаимодействия мобильного элемента и гена-мишени, приводящее к возникновению определенного набора инсерционных аллелей. Инсерционные мутации могут быть как стабильными, так и нестабильными, мутирующими с различной частотой в генеративных и соматических клетках. Нестабильность инсерционных аллелей может быть результатом затрагивающих локус хромосомных перестроек при рекомбинации между близлежащими ТЭ; 2) в популяциях получают распространение гены-мутаторы, влияние которых заключается либо в специфическом действии на локусы-мишени, либо в воздействии на геном в целом. В первом случае повышается мутабельность отдельных генов, во втором – мы наблюдаем повышение общей мутабельности; 3) наконец, нельзя исключить действие неучитываемого или вообще неизвестного, длительно действующего фактора. При этом список причин не исчерпывается.

Отмечается, что ТЭ, будучи факультативными элементами генома, коэволюционируют вместе с ним, и их роль в формировании генетической изменчивости разумно рассматривать в контексте коадаптированного генома. Учитывая сложный характер взаимодействий мобильного элемента с геномом хозяина в процессе коэволюции, между различными системами этого генома и разными

модулями мобильного элемента могут возникать взаимоотношения разной степени сложности, не описываемые в рамках упрощенной парадигмы отношений хозяин–эндосимбионт. В перспективе ТЭ все с большим основанием рассматриваются и как важные факторы, расширяющие эволюционные возможности геномов, и как главный источник эволюционного инструментария для генерирования наследственной изменчивости в ответ на изменения окружающей среды.

Одним из положений теории дарвиновской эволюции является исключительная роль отбора в биологической эволюции. Учение Чарльза Дарвина с момента его опубликования в 1858 г. уже на протяжении 150 лет подвергалось многократным попыткам ревизии. Несмотря на их многообразие, антидарвиновские теории были направлены по большому счету именно против этого основного тезиса дарвинизма, а со времени синтеза классического дарвинизма и генетики и против основного тезиса синтетической теории эволюции.

Генетика охарактеризовала и продолжает описывать материал эволюции – мутации, вскрывать новые и многообразные механизмы возникновения различных типов мутаций и оценивать скорость мутационного процесса, открывать разнообразие экспрессии конкретных генов, а также изучать специфику межallelных, межгенных и даже межгеномных взаимодействий.

Генетическая изменчивость популяций складывается из двух компонент: 1) накопленная и поддерживаемая в популяции генетическая изменчивость (генетический полиморфизм); 2) *de novo* возникающие мутации в репродуктивном поколении, или собственно мутационный процесс, который определяет спектр мутаций и скорость мутирования.

Методы и подходы к изучению этих двух составляющих различны. Здесь следует подчеркнуть, что если существующую в популяции генетическую изменчивость на любом уровне (морфологическом, биохимическом, молекулярном и т. д.) можно описать как набор аллелей и соответствующих им частот, то вычленив из нее мутационную компоненту (возникшие *de novo* мутации) непосредственно не всегда удается. Как правило, оценка мутационного процесса более трудоемка и требует специальных экспериментальных исследований и подходов.

Кроме того, спектр и частоты аллелей в популяции не описывают в полной мере генетический полиморфизм этой популяции, но

являются лишь исходным материалом для нее, который сложным образом перекомбинируется и преумножается в процессах размножения клеток и развития многоклеточного организма, а также в процессах популяционной динамики (что обычно называется микроэволюцией). Сюда входят: 1) варьирующая экспрессия генов в зависимости от условий среды и эпигенетических факторов; 2) комбинативная изменчивость; 3) все типы рекомбинации; 4) возможный горизонтальный перенос генов; 5) действие факультативных элементов генома, например, такого, как вертикально передающийся эндосимбионт *Wolbachia*. Однако этим процессы формирования популяционного полиморфизма далеко не исчерпываются.

Отметим еще одну задачу популяционной генетики. При сравнительном анализе полиморфизма по определенному признаку или набору признаков обычно возникает проблема экстраполяции полученных выводов на полиморфизм других признаков и генофонд популяции в целом. Оценка степени изменчивости признака во многом зависит как от взятого в анализ признака, так и от метода оценки его полиморфизма.

Изменчивость фрагментов генов *Adh* и *yellow* в популяциях *Drosophila melanogaster*

Генетическое разнообразие космополитических и синантропных видов, к которым относится *Drosophila melanogaster*, представляет неизменный интерес для генетики популяций и экологии.

С целью изучения генетического разнообразия североевразийских популяций *Drosophila melanogaster* анализировали нуклеотидную изменчивость фрагментов гена *Adh* и интрона 1 гена *yellow* линий, выделенных из природы, содержащихся в фонде лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН (Ваулин, Захаров, 2007). Проведено сравнение изученных последовательностей с приведенными в базе GeneBank

последовательностями. Для гена *Adh* было проведено сравнение с последовательностями: M22210, M17827, M17828, M17830, M17831, M17832, M17833, M17834, M17835, M17836, M17837, M19547, M36580, X04454, X60791, X60792, X60793 и U20765. В случае с фрагментом гена *yellow* рассматривались последовательности: AC104286, AL023873, X04427, X04703, AF345767, AF345768, AF345769, AF345770, AF345771, AF345772, AF345773, AF345774, AF345775, AF345776, AF345777 и AF345778. Показано преобладание образцов, несущих F-форетический вариант аллеля гена *Adh*. Из 53 изученных мух 42 были гомозиготными по этому аллелю. Известно, что носители F-аллеля при низких температурах имеют преимущество по сравнению с гомозиготами по S-аллелю. Поэтому полученный результат в определенной степени является ожидаемым для североевразийских популяций *Drosophila melanogaster*. Образцы, соответствующие F-аллелю, оказались мономорфными по нуклеотидной последовательности и идентичны аннотированным в GeneBank образцам M17833 (Флорида, США), M17834 (Франция), M17835 (Вашингтон, США), M17836 (Африка), X60791 и X60792. Обнаруженная нуклеотидная последовательность F-аллеля *Adh* не только является широко распространенной, но и полностью совпадает с предположительно предковой последовательностью, имеющей африканское происхождение.

Единообразие нуклеотидных последовательностей F-аллеля *Adh*, выявленное в наших исследованиях, по-видимому, объясняется адаптивностью именно данной последовательности гена (или кластера сцепленных генов) к условиям среды Северной Евразии.

В исследованных евразийских популяциях были выявлены три варианта нуклеотидной последовательности, несущие диагностическую замену S-аллеля гена *Adh*. Один из них, отмеченный только в гетерозиготном состоянии у двух образцов, идентичен аннотированной последовательности U20765, соответствующей нуль-аллелю. Так как фрагмент гена *Adh* у выявленных двух образцов не содержит каких-либо несинонимичных замен в экзоне, то вопрос о функциональной способности гена, несущего соответствующий набор замен, остается открытым. Если рассматриваемые два образца несут

нуль-аллель, то этот вариант гена является, по-видимому, широко распространенной в популяциях рецессивной летальной мутацией. Один из двух других выявленных вариантов последовательности гена *Adh* отличается от аннотированной последовательности X60793 только единичной нуклеотидной заменой. Второй выявленный вариант несет комбинации замен аннотированных последовательностей M17830 (Франция) с M17827 (Вашингтон, США) или M36580. Два последних выявленных варианта были отмечены в гомозиготном состоянии, следовательно, не могут являться летальными мутациями. История возникновения этих вариантов последовательности гена *Adh Drosophila melanogaster* не ясна.

Ген *yellow* связан с регуляцией пигментации крыльев и кутикулы и располагается в теломерном районе X-хромосомы *Drosophila melanogaster* – позиция 0,0 на генетической карте (Lindsley, Grell, 1967; Geyer, Corces, 1987). Описаны две группы мутантных рецессивных аллелей по этому гену. Первая группа мутаций (*yellow-1*) приводит к нарушению пигментации (т. е. окрашиванию в желтый цвет) крыльев и всех кутикулярных образований; вторая группа мутаций (*yellow-2*) приводит к частичным нарушениям пигментации (Nash, 1976).

При анализе нуклеотидной последовательности фрагмента интрона гена *yellow* выявлена низкая степень изменчивости этой последовательности. Из 34 образцов только один сохранил единичную замену. В то же время при сравнении полученных последовательностей с последовательностями, приведёнными в базе данных для африканских популяций *Drosophila melanogaster* и лабораторной линии Canton-S, выявлена специфичная для каждой группы единичная замена. Этот результат соответствует известным данным, полученным с использованием микросателлитных маркеров, о высокой степени изолированности евразийских и африканских популяций *Drosophila melanogaster* (Schlötterer *et al.*, 2006).

Низкая нуклеотидная изменчивость гена *yellow* несколько противоречит тому факту, что частота возникновения фенотипически проявляющихся нарушений в нем ($1,1 \times 10^{-4}$) выше средней частоты появления видимых мутаций (10^{-5} – 10^{-6}) (Glass, Ritterhoff, 1956; Schalet,

1986; Ashburner, 1989). Противоречие можно разрешить, если предположить существование высокого уровня инсерционного мутагенеза в локусе *yellow*.

Таким образом, характеры подразделенности ареала *Drosophila melanogaster*, полученный на основе сравнения нуклеотидных последовательностей фрагментов генов *Adh* и *yellow* из географически удаленных популяций, существенно различаются. Если в случае с изменчивостью по гену *Adh* отмечается широкое распространение вариантов нуклеотидных последовательностей, по крайней мере, частично имеющих афротропическое происхождение, то в случае с геном *yellow* широкое распространение диагностической для евразийских популяций замены, по-видимому, связано с эффектами дрейфа генов и изоляции на начальном этапе расселения вида в Евразии. По-видимому, разные механизмы эволюции рассматриваемых последовательностей связаны с особенностями функциональной нагрузки и хромосомной локализацией генов *Adh* и *yellow*. Во-первых, ген *yellow* локализован в теломерном районе X-хромосомы (участок хромосомы со сниженной рекомбинацией), следовательно, подвержен сильному влиянию сопутствующего отбора. Во-вторых, X-хромосом в популяциях меньше, чем количество каждой из аутосом, что является причиной более сильной зависимости изменений частот генов X-хромосомы от дрейфа генов. При расселении *Drosophila melanogaster* отмеченные особенности должны приводить к наиболее сильным изменениям частот генов, расположенных в теломерных и прицентромерных участках X-хромосом, чем частот, сцепленных с полом, и тем более аутосомных генов, имеющих «внутреннюю» хромосомную локализацию. При колонизации и изменении вектора отбора, по-видимому, несмотря на относительно низкие скорости молекулярной эволюции в районах с пониженной рекомбинацией, в них могут быстро накапливаться ранее редкие варианты последовательностей.

Генетическая нестабильность и «моды на мутации»

Открытие генетической нестабильности – повышенной мутабельности отдельных локусов (локус-специфической нестабильности) – в

работах М. Демерека и М. Грина у дрозофилы, Б. Мак-Клинтон – на кукурузе послужило основанием сначала предположить, а затем и связать генетическую нестабильность с предсказанными Б. Мак-Клинтон транспозирующими элементами (ТЭ или МЭ), существование которых затем было доказано молекулярно-генетическими методами (см. Хесин, 1984).

Более чем полувековой скрининг природных популяций *Drosophila melanogaster* на территории бывшего Советского Союза выявил колебания концентраций и частот возникновения по некоторым видимым мутациям. Вспышки мутаций, или «мода на мутации», в популяциях – достаточно регулярное явление в жизни вида *Drosophila melanogaster* (Берг, 1961; Голубовский и др., 1974; Golubovsky, Zakharov, 1980; Berg, 1982; Захаров, Голубовский, 1985; Захаров, 1995; Захаров, Скибицкий, 1995; Zakharov et al., 2000). Вспышки носят временный характер и спустя 7–11 лет затухают.

Длительное сохранение свойств высокой мутабельности – для дрозофилы это сотни поколений – может быть следствием целого ряда причин: взаимодействия мобильного элемента и гена-мишени; гены-мутаторы; мутагенные факторы среды и др. Далее мы рассмотрим некоторые из них более подробно.

Мутабельность в локусе есть специфическое свойство взаимодействия мобильного элемента и гена-мишени, приводящее к возникновению определенного набора инсерционных аллелей. Отметим, что инсерционные мутации могут быть как стабильными, так и нестабильными, мутирующими с различной частотой в генеративных и соматических клетках (табл. 1, 2). Нестабильность мутаций может быть результатом локус-хромосомных перестроек при рекомбинации между близлежащими ТЭ.

О причинах локус-специфической нестабильности в гене *yellow* *Drosophila melanogaster*

В период 1982–1991 гг. в популяции Умани *Drosophila melanogaster* наблюдали повышенную концентрацию *yellow-2*-мутаций (Захаров, Голубовский, 1985; Голубовский и др., 1987; Захаров, 1995; Захаров и др., 1995). Выделенные в этот период y^2 -аллели отличались друг

Таблица 1

Частота мутирования *singen-49* и его производных. Четыре плеяды
(Голубовский, Захаров, 1979; Golubovsky, Zakharov, 1980; Захаров, Юрченко, 1982, 1984;
Юрченко и др., 1984; Yurchenko *et al.*, 1984; Захаров, 1995)

Плеяда	Исходный аллель	Направление мутирования	Изучено хромосом	Частота мутирования
1	sn^s_1	$\rightarrow sn^+_1$	19392	$2,7 \times 10^{-3}$
	sn^+_1	$\rightarrow sn^s_1$	9743	$8,2 \times 10^{-4}$
1 \Rightarrow 2	sn^s_1	$\Rightarrow sn^m_2$	19392	$2,6 \times 10^{-4}$
2	sn^m_2	$\rightarrow sn^+_2$	7959	$2,1 \times 10^{-2}$
		$\rightarrow sn^s_2$		$1,2 \times 10^{-2}$
	sn^{+2a}	$\rightarrow sn^s_2$	11752	$8,9 \times 10^{-3}$
	sn^s_2	$\rightarrow sn^+_2$	5592	$1,1 \times 10^{-2}$
$\rightarrow sn^m_2$		$5,7 \times 10^{-3}$		
2 \Rightarrow 3	sn^+_2	$\Rightarrow sn^{ex}_3$	11752	$5,1 \times 10^{-4}$
3	sn^{ex}_3	$\rightarrow sn^s_3$	7880	$1,6 \times 10^{-3}$
		$\rightarrow sn^+_3$		$9,9 \times 10^{-3}$
	sn^s_3	$\rightarrow sn^+_3$	2845	$2,8 \times 10^{-3}$
	sn^+_3	$\rightarrow sn^{ex}_3$	5570	$1,9 \times 10^{-2}$
$\rightarrow sn^s_3$		$1,2 \times 10^{-2}$		
3 \Rightarrow 4	sn^+_3	$\Rightarrow sn^+_4 clw$?	?
4	$sn^+_4 clw$	$\rightarrow sn^+_4 clw^+$	1874	$2,2 \times 10^{-2}$

от друга по целому ряду генетических характеристик: по способности и частоте реверсии к нормальному фенотипу; способности давать каскад фенотипически различающихся производных; их комплементационным свойствам (Захаров, Голубовский, 1985; Голубовский и др., 1987; Захаров и др., 1995; Захаров, Скибицкий, 1995). Одной из основных характеристик высоконе-стабильных локус-специфических мутаций, выделенных из природных популяций *Drosophila melanogaster*, является прямая причастность к этому явлению мобильных генетических элементов. Молекулярно-генетический анализ показал, что у всех $yellow^2$ -аллелей популяции Умани в одном и том же месте регуляторной части гена *yellow* встроены один и тот же дефектный *hobo*-элемент (Грачева и др., 1998; Захаренко и др., 2000, 2004). Согласно Саузерн-блот-анализу уманские y^2 -линии разделяются на две группы в зависимости от того, скрещивали мух этих линий с мухами из лабораторных линий или нет (рис. 1). 3/4 y^2 -линий из Умани, ведущих свое происхождение от самок, имели одну и ту же инверсию

в регуляторной зоне гена *yellow*, фланкированную *hobo*-последовательностями. Если же y^2 -линия брала свое начало от мутантного самца, то, как правило, в регуляторной зоне гена *yellow* наблюдали делецию инверсии или комбинацию других перестроек. Как y^2 -мутанты, так и их фенотипически нормальные производные имели встройку *hobo*-последовательности в одном и том же положении регуляторной зоны. Поэтому высокая частота появления *yellow*-мутаций *de novo* в этой популяции, вероятно, связана с нестабильностью y^+ -производных, которые могли появляться в уманской популяции от y^2 -особей. Таким образом, y^2 -нестабильность появилась в Умани по чисто генетическим причинам: обусловлена *hobo* и связана с его внедрением и перемещением, а также рекомбинацией, инициируемой этим мобильным элементом. Исчезнуть из популяции y^2 -мутация могла по случайным причинам, поскольку ее концентрация не превышала в течение десятилетия 1–3 % или/и, возможно, за счет меньшей жизнеспособности, конкурентоспособности или плодовитости y^2 -мутантов.

Таблица 2

Концентрация и частота возникновения *de novo* мутаций *yellow* в популяции Умань и других природных популяциях *Drosophila melanogaster* (Захаров, Голубовский, 1985; Голубовский и др., 1987; Захаров, 1995; Захаров и др., 1995; Захаров, Скибицкий, 1995)

Год	Концентрация				Частота возникновения			
	Умань		Все другие популяции*		Умань		Все другие популяции	
	N**	%	N	%	N	%	N	%
1980	1241	0,08	2674	0	–	–	17144	0
1981	1660	0,12	9105	0,01	4800	0	35808	0,003
1982	342	3,22	5596	0	2929	0	31991	0,001
1983	2174	0,78	11569	0	4648	0	30570	0
1984	3691	0,49	7286	0,01	27141	0,011	42139	0
1985	720	2,50	3617	0	13083	0	61725	0
1986	2879	0,87	8409	0	20305	0,005	86142	0,001
1987	2258	1,73	7234	0	34718	0,112	63295	0
1988	1738	1,04	5530	0	32219	0,016	123639	0
1989	2047	0,88	1216	0	21946	0,027	12117	0
1990	1531	0,46	3123	0	16076	0	24123	0,004
1991	1142	0,35	–	–	20345	0	–	–
1992	–	–	5283	0	–	–	105903	0,001
1993	885	0	882	0	10195	0	882	0

* Ежегодно исследовалось несколько популяций из различных регионов. За период 1981–1993 гг. исследовалось 36 популяций. Например, кроме популяции Умань, в 1986 г. были изучены популяции: Чернобыль, Ужгород, Брест, Одесса, Запорожье и Самарканд, в 1990 г. – Запорожье, Магарац, Минеральные Воды, Хорог, Душанбе. ** N – общее количество изученных X-хромосом.

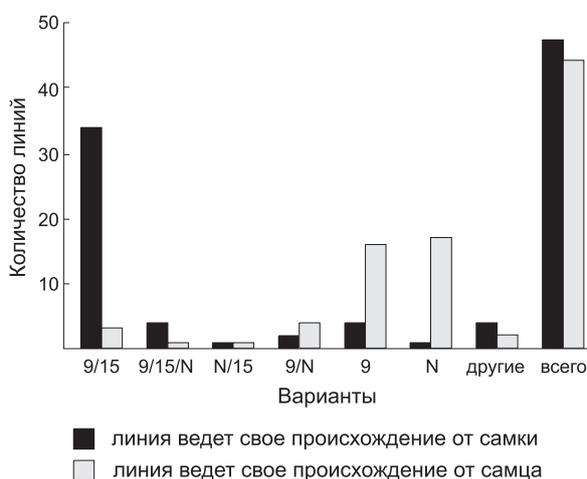


Рис. 1. Молекулярно-генетические варианты (длина фрагментов ДНК на Саузерн-блотах после рестрикции *Bam*HI-*Bgl*II и гибридизации с зондом *Bam*HI-*Hind*III из гена *yellow*) в различных линиях *Drosophila melanogaster*, выделенных из природной популяции Умани.

N – одиночный фрагмент ДНК варьирующей длины (от 0,5 до 20 т.п.н.).

Влияние мутаций системы общей репарации на частоты мутирования нестабильных генов X-хромосомы *Drosophila melanogaster*

Нестабильное поведение генов связано с **внедрением или вырезанием** мобильных элементов в генном сайте, регулирующем транскрипцию или сплайсинг генной последовательности (Mobile DNA, 1989). При эктопическом спаривании двух копий мобильного элемента, расположенных в одном плече хромосомы, и последующей рекомбинации между ними в зависимости от ориентации мобильных элементов происходит образование делеций, дупликаций или инверсий генетического материала, лежащего между ними. Если копии мобильного элемента расположены по разные стороны от центромеры, то при их рекомбинации образуются кольцевая хромосома и ацентрический фрагмент. При рекомбинации между мобильными элементами,

лежащими в разных хромосомах, происходит образование транслокаций, в том числе и дицентрических хромосом, приводящих к появлению хромосомных «мостов» при митозах и мейозах (McClintock, 1984; Lim, 1988; Engels *et al.*, 1990; Lim, Simmons, 1994; Gray, 2000). Вырезание и встраивание транспозонов приводит к образованию двунитевых разрывов и брешей ДНК. Рекомбинация между двумя копиями мобильного элемента также связана с инициацией и последующей репарацией двунитевых разрывов (Banga *et al.*, 1991; Sentry, Kaiser, 1992).

Наряду с этим в геноме существует мощная система репарации, действующая на разных этапах клеточного цикла и на разные типы нарушения ДНК (см. обзор Чмуж и др., 2006): одно- и двунитевые разрывы, поперечные сшивки между молекулами ДНК, вызываемые разными мутагенными факторами: (1) внешней среды – от ионизирующего излучения, алкилирующих или других, нарушающих структуру ДНК, химических агентов и (2) мутагенов внутриклеточной среды – от продуктов клеточного метаболизма, например, редких модифицированных форм нуклеотидов и спонтанных ошибок репликации ДНК до мобильных фрагментов ДНК – транспозонов, являющихся, по сути дела, «внутренними мутагенами» генома. Следовательно, в процессы инсерционного мутагенеза должна быть неизбежно вовлечена репарационная система генома хозяина. В связи с этим представляется важным выявление характера влияния конкретных генетических составляющих каскада репарационной системы на частоты мутирования инсерционных мутаций, опосредованных внедрением или вырезанием, а также рекомбинационным взаимодействием копий мобильных элементов генома.

У *Drosophila melanogaster* описан целый класс генов, мутации которых нарушают нормальный ход процесса репарации, – это так называемые мутаген-чувствительные мутации (Lindsley, Zimm, 1992). Мутации этого класса имеют свою специфику: действуют на разных стадиях процесса репарации во время клеточного цикла, различаются по типу своей специфики – по способности репарировать одно- или двуцепочечные разрывы ДНК или вырезать поперечные сшивки между двумя гомологичными нитями ДНК.

В работе Чмуж и др. (2004) исследовались частоты мутирования серии нестабильных инсерционных аллелей генов X-хромосомы *Drosophila melanogaster* – *white*, *yellow* и *singed*, некоторые из них, как показано молекулярно-генетическими методами, вызваны внедрением транспозона в геномном окружении, мутантном по ряду элементов каскада общей системы репарации, – у гомозиготных самок по мутаген-чувствительным мутациям *mus207*, *mus302* и *mus308*.

Нестабильные аллели были выделены в разные годы из природных популяций *Drosophila melanogaster* на территории бывшего СССР. Было показано, что генетическая нестабильность этих аллелей сохраняется в ряду поколений на протяжении десятилетий поддержания линий в лабораторных условиях (Захаров, Скибицкий, 1995; Захаров и др., 1995, 2000; Захаров, 2005). Для некоторых аллелей в локусах *singed* и *yellow* молекулярно-генетическими методами показано наличие последовательности мобильного элемента *hobo*. Мутирование этих генов – межаллельные переходы – связано с образованием различных типов хромосомных перестроек вблизи или внутри генов, предположительно опосредованных мобильным элементом *hobo* (Юрченко и др., 1984, 1996, 1997; Грачева и др., 1998; O'Hare *et al.*, 1998).

Были синтезированы специальные линии, самки в которых несли сцепленные X-хромосомы и были гомозиготными по различным *mus*-мутациям. Такие линии давали возможность помещать X-хромосому самца с нестабильным аллелем в дефицитное по репарации генетическое окружение самок. Используемая схема позволяет оценивать уровень нестабильности на фоне различающихся по действию мутаген-чувствительных мутаций уже в первом поколении. Базовый уровень нестабильности исследуемых мутаций определялся в контрольных скрещиваниях самцов нестабильных линий с самками лабораторной линии со сцепленными X-хромосомами *C(1)DX*, *uwf/Y*, на основе которых синтезировались и тестерные линии.

Частоты мутирования всех исследуемых аллелей в геномном окружении самок лабораторной контрольной линии *C(1)DX*, *uwf/Y* находятся в пределах интервала $8,4 \times 10^{-4} - 2,5 \times 10^{-2}$.

В геномном окружении тестерной линии C(1)DX, *ywf/Y*; *mus308* частота мутирования всех исследуемых аллелей снижается в 2–10 раз, число мутационных событий – в 3 раза (число семей, в которых наблюдалось мутирование, – 6,6 % в опыте против 18,3 % в контроле) (см. рис. 2). Подобное изменение характеристик нестабильных аллелей наблюдается и в геномном окружении тестерной линии C(1)DX, *ywf/Y*; *mus302* (снижение частоты мутирования всех исследуемых линий в 2–5 раз).

Следует отметить, что совершенно противоположный характер влияния на частоты мутирования исследуемых аллелей оказывает геномное окружение тестерной линии C(1)DX, *ywf/Y*; *mus207*. У большинства исследуемых аллелей наблюдается 2–5-кратное увеличение мутабельности (кроме аллеля *yellow*⁺⁷⁴³⁻⁶⁶, у которого наблюдаемое увеличение мутабельности только в 1,3 раза).

Таким образом, получены данные, свидетельствующие в пользу того, что процессы общегеномной репарации вовлечены в процессы локус-специфического инсерционного мутагенеза. По-видимому, вырезание–встраивание мобильного элемента инициирует каскад репарационных событий, находящихся под контролем генов репарации.

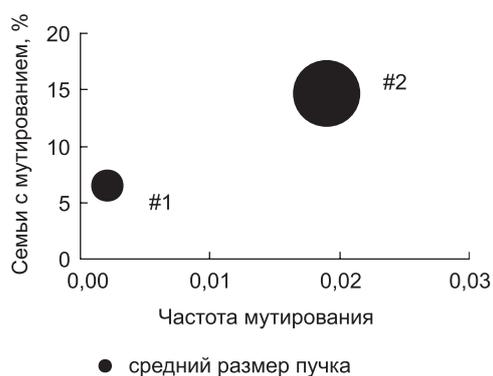


Рис. 2. Параметры мутирования (частота мутирования, средний размер пучка) аллеля *y*⁺⁷⁴³ в скрещиваниях:

#1 – 1 самец *y*⁺⁷⁴³/*Y* × самки *mus308*;C(1)DX, *ywf/Y*;
#2 – 1 самец *y*⁺⁷⁴³/*Y* × самки C(1)DX, *ywf/Y*.

Гены-мутаторы и генетический груз в природных популяциях

Для диплоидных и полиплоидных организмов вредные в гомозиготном состоянии мутации (вредные мутации или генетический груз) находятся под «прикрытием» нормальных аллелей и передаются вертикально. Этому основополагающему для популяционной и эволюционной генетики положению уже более 80 лет. Отбор не может изменить самого гена. Однако он может изменить частоту гена, а также, путем создания благоприятной генотипической среды, – его выражение. В крайнем выражении это может имитировать возникновение новой мутации (Четвериков, 1926, 1983).

В популяциях получают распространение гены-мутаторы, эффект которых заключается либо в специфическом действии на локусы-мишени, либо на геном в целом. В результате повышается соответственно либо мутабельность конкретных генов, либо темп общей мутабельности).

В течение двух последних десятилетий нами изучались концентрации летальных мутаций и MR-активность (Male Recombination) хромосом в природных популяциях *Drosophila melanogaster* на территории бывшего СССР (Иванников и др., 1995). Были изучены популяции Восточной Европы, Сибири, Средней Азии и Дальнего Востока.

Согласно полученным данным, в исследованных популяциях концентрации летальных мутаций в хромосоме 2 *Drosophila melanogaster*, в основном, варьируют в пределах 10–30 %. Минимальная концентрация летальных мутаций (2,8 %) была обнаружена нами в популяции «Чемал» в 2003 г. (Сибирь), а максимальная (36,7 %) – в г. Сочи в 2004 г.

Установлено, что концентрация MR-хромосом в популяциях *Drosophila melanogaster* Северной Евразии варьирует от 10 до 50 %. Во всех изученных популяциях были обнаружены MR-активные хромосомы. На фоне остальных популяций *Drosophila melanogaster* по концентрации и силе MR-факторов выделялась популяция Бишкек-2001. Здесь концентрация MR-активных хромосом достигла 84,2 %. Более того, именно в популяции Бишкек-2001 обнаружена высокая концентрация «сильных» (частота рекомбинации ≥ 1 %) MR-хромосом.

Наконец, мы не можем исключить действие не учитываемого нами или вообще неизвестного, длительно действующего мутагенного фактора внешней среды. При этом мы должны понимать, что этим список причин, повышающих концентрацию мутаций или мутабельность гена, не исчерпывается.

**Симбиотическая система
Drosophila melanogaster–*Wolbachia*:
генотипическое разнообразие в популяциях
Северной Евразии**

Понимание эволюционных процессов подразумевает представление вида в многообразии взаимоотношений биотической и абиотической природы. Симбиотические взаимоотношения при разной степени достигнутой взаимозависимости определяют эволюционные преобразования партнеров. Благодаря современным методам исследования становится возможным изучать феноменологию таких сложных симбиотических систем, как, например, *Artropoda* (*Nematoda*) и *Wolbachia*.

Исключительный эволюционный успех симбионта – альфа-протеобактерии *Wolbachia* – привлекает к себе пристальное внимание исследователей. По разным оценкам от 17 до 76 % видов только насекомых могут быть инфицированы *Wolbachia* (Werren, 1997; Hilgenboecker *et al.*, 2008). Передача бактерии в ряду поколений осуществляется через цитоплазму матери к потомству трансвариально. В зависимости от вида-хозяина и штамма бактерии уровни их взаимоотношения могут обнаруживать характеристики паразитизма, комменсализма и мутуализма. Паразитизм заключается в явлениях репродуктивных аномалий, индуцируемых бактерией у вида-хозяина. К их числу относят цитоплазматическую несовместимость, парте-

ногенез, феминизацию генетических самцов и андроцидоз. Эти явления так же, как и уровень их проявления, видо- и штаммоспецифичны. Так, например, для рода *Drosophila*, для разных видов группы *melanogaster* описана различная степень цитоплазматической несовместимости (ЦН). Таким образом, присутствие эндосимбионта *Wolbachia* может выступать в качестве факультативного генетического фактора хозяина.

Нам удалось показать широкую распространенность трех генотипов *Wolbachia* на территории Северной Евразии при анализе 665 изосамочьих линий *D. melanogaster*, созданных на основе сборов из природных популяций и содержащихся в фонде лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН (Илинский, Захаров, 2007а, б). Эндосимбионт *Wolbachia* обнаруживается повсеместно во всех популяциях *D. melanogaster*, уровень инфицированности колеблется от 15 до 100 %. Во всех регионах исследования наиболее распространен генотип *wMel*. Генотип *wMelCS2* встречается в популяциях *D. melanogaster* Алтая, Средней Азии, Кавказа и значительно реже в Восточной Европе. Генотип *wMelCS* обнаруживался единично только в популяциях Средней Азии и Алтая.

Для *Drosophila melanogaster* показано, что *Wolbachia* вызывает слабый уровень цитоплазматической несовместимости (табл. 3) или не вызывает вовсе (Mercot, Charlat, 2004), что не может непротиворечиво объяснить столь широкое распространение и в столь значительных концентрациях эндосимбионта в популяциях *Drosophila melanogaster*.

Для объяснения наблюдаемого феномена предлагается установление возможных мутуалистических характеристик во взаимоотношениях. Так, например, известны два уникальных факта взаимодействия *Wolbachia* с ядерными генами *Drosophila melanogaster*. Мутантные

Таблица 3

Уровень эмбриональной смертности во внутрилинейных скрещиваниях линии 335 [*wMel*]

Серия эксперимента*	Число эмбрионов	Доля эмбриональной смертности
А (контроль, самец и самка инфицированы)	4468	0,030 ± 0,006
Б (контроль, самка инфицирована, самец нет)	5170	0,040 ± 0,006
В (цитоплазматическая несовместимость)	3520	0,075 ± 0,015
Г (контроль, самец и самка неинфицированы)	3861	0,028 ± 0,005

аллели гена *chico* – chi^1 и chi^2 , кодирующего инсулиновый рецептор, определяют в гомозиготе пониженный синтез этого белка по сравнению с гетерозиготами chi^1/chi^+ и chi^2/chi^+ . Удивительным фактом оказалось то, что линия генотипа chi^2/chi^2 не может существовать без *Wolbachia*, т. е. аллель chi^2 проявляет себя как рецессивная летальная мутация. Для гомозигот chi^1/chi^1 никаких драматических последствий отсутствия *Wolbachia* не наблюдалось. Каким образом возникает такой эффект, какого рода взаимодействие – остается неизвестным (Clark *et al.*, 2005).

Ген *Sxl* является ключевым в определении пола у *Drosophila melanogaster*. В настоящее время известно множество аллелей этого гена, различающихся разнообразием спектра их плеiotропного действия. *Wolbachia* оказалась способна восстанавливать фертильность самок *Drosophila melanogaster*, мутантных по аллелям гена *Sxl*, индуцирующим некоторые опухоли (Starr, Cline, 2002). Это действие *Wolbachia* оказалось аллелеспецифично, что указывает на тесное взаимодействие *Wolbachia* с мутантным SXL белком.

На основе анализа нуклеотидной последовательности митохондриальных генов цитохромоксидазы первой субъединицы С и АТФазы шестой субъединицы *D. melanogaster* нам впервые удалось установить сопряженность наследования ее митохондриального генома и трех генотипов *Wolbachia* (табл. 4). Этот факт открывает новые возможности в разработке представлений эволю-

ции митохондриального генома *D. melanogaster*, в частности и для видов *Artropoda*, в целом.

Особенности инсерционного мутагенеза

Следует отметить, что ТЭ, будучи факультативными элементами генома, коэволюционируют вместе с ним, и их роль в формировании генетической изменчивости необходимо осмысленно рассматривать в контексте коадаптированного генома.

Когда рассматривают механизм инсерционного мутагенеза, то обычно ограничиваются взаимодействием между геномом хозяина и ТЭ, транспозазой и супрессором транспозазы – тем, что известно под названием «гибридный дисгенез». Взаимодействие между МЭ и их эволюция являются также важными факторами, влияющими на их активность и поведение.

Следовательно, мы не можем не учитывать активность МЭ и их проявление на различных уровнях организации живого, равно как и их влияние в образовании генетической изменчивости вне контекста коадаптированного генома, который, несомненно, определяется естественным отбором и может быть оценен относительной приспособленностью отдельного организма (генотипа) к специфическим условиям среды в данное время.

Когда мы выделяем в качестве одного из факторов эволюции инсерционный мутагенез и в качестве материала для эволюции инсерци-

Таблица 4

Инфекционный статус и гаплотипическое разнообразие гена *COXI* митохондриальной ДНК *Drosophila melanogaster* (Илинский, Захаров, 2007а, с изменениями)

Гаплотип митохондриальной ДНК <i>D. melanogaster</i>	Число неинфицированных линий	Число линий с известным статусом зараженности и генотипом бактерии <i>Wolbachia</i>		
		<i>wMel</i>	<i>wMelCS2</i>	<i>wMelCS</i>
СТ	14	18	0	0
СС	3	0	6	0
ТС	2	0	0	4

онные мутации, прежде всего, мы имеем дело с другими, отличными от спонтанных, скоростями эволюции генетического материала.

Ниже представлены закономерности мутирования в системах с инсерционными мутациями (Golubovsky, Kaidanov, 1994, с изменениями).

Хромосомы, гены и геномы

– Генетическая нестабильность, опосредованная инсерциями транспозонных мобильных генетических элементов (МЭ) *P* и *hobo*, связана с внедрением или вырезанием МЭ в геномном сайте, регулирующем транскрипцию или сплайсинг кодирующей последовательности. При вырезании последовательности МЭ нет точного вырезания – в геномной последовательности остаются последовательности МЭ (footprint).

– Рекомбинация в гетерозиготах по двум инсерционным аллелям повышена по сравнению с нормальной – это связано с образованием дуплетных разрывов в хромосоме на предмейотических стадиях зародышевого пути. Показана зависимость частоты мутирования инсерционных нестабильных аллелей генов *singed*, *yellow* и *white* от системы контроля общей рекомбинации в клетке.

– При эктопическом спаривании двух копий мобильного элемента и последующей рекомбинации между ними в зависимости от ориентации МГЭ происходит образование делеций, дупликаций или инверсий генетического материала.

– Нестабильные хромосомы: индукция летальных и видимых мутаций, хромосомных перестроек с точками разрывов в области встраивания МГЭ.

– Наличие в геноме «горячих точек» инсерционного мутагенеза.

– Сложный контроль инсерционной мутабельности: цитотип, гены-мутаторы, взаимодействие МГЭ между собой и генами генома-хозяина.

– Процессы общегеномной репарации вовлечены в процессы локус-специфического инсерционного мутагенеза.

– Генетическая инженерия в природе – создание транспозонов: два отдельных гена под контролем одного МГЭ (*hobo*) одновременно экспрессируются и мутируют – *sn⁴⁹::Tn-clw*.

МГЭ могут служить векторами при горизонтальном переносе генетического материала.

Онтогенетический уровень

– Аллелеспецифичный характер нестабильности в половых и соматических клетках.

– Пучковый характер появления мутантов благодаря транспозиции МГЭ на первых стадиях зародышевого пути.

– Экспрессия инсерционной мутации может зависеть от температуры и количества гетерохроматина в геноме.

Популяционный уровень

– «Мода на мутации» и возвращение «моды на мутации». Колебание и синхронные всплески концентрации мутаций и мутабельности генов, появление многочисленных однотипных инсерционных аллелей в географически отдаленных популяциях.

– Присутствие в популяциях высокомутабельных по различным локусам хромосом.

– Распространение в популяциях *Drosophila melanogaster* генов-мутаторов типа MR, которые могут быть причиной повышенного возникновения широкого спектра мутаций, связанных с процессами разрыва-воссоединения хромосом.

– Когда выделяют в качестве одного из факторов эволюции инсерционный мутагенез, а в качестве материала для эволюции инсерционные мутации, то имеют дело с повышенными скоростями эволюции генетического материала.

– МЭ выступают как важные генетические, фенотипические и эпигенетические факторы в способности геномов интенсифицировать свою собственную эволюцию и как главный источник эволюционного инструментария для генерирования наследственной изменчивости в ответ на изменения окружающей среды. МЭ и геном хозяина образуют пластично эволюционирующую систему коадаптированного генома, то, что называется «молекулярной доместикацией».

МЭ в геноме составляют значительную часть последовательности ДНК. Следовательно, класс инсерционных мутаций должен представляться как «сильные мутации» – в подавляющем большинстве случаев инсерции МЭ в ген будут приводить не только к видимым мутациям, но и к мутациям, влияющим на жизнеспособность

(включая летальные мутации), и к мутациям компонентов общей жизнеспособности, или более широко, к мутациям, влияющим на общую приспособленность. С одной стороны, они, казалось бы, должны элиминироваться отбором. С другой стороны – инсерции различных классов МЭ широко представлены в геномах многих видов, обычно это инсерции в гетерохроматических районах и в интронах.

Отметим, что, если у дрозофилы около 50 % морфологических мутаций вызваны внедрением МЭ, то у человека такие мутации крайне немногочисленны. Существует множество вопросов, связанных с представленностью МЭ в геномах. Почему 90 % ДНК саламандры имеют происхождение от ТЭ, тогда как нематоды свободны от ТЭ? Почему большинство ретровирус-подобных элементов сконцентрированы в геномах насекомых? Почему большинство элементов типа LINE находятся в геномах позвоночных?

Хотя МЭ широко распространены в геномах других организмов, но все же большинство наших представлений об их активности и контроле связаны с исследованиями на дрозофиле.

Поскольку отношения между МЭ и видом-хозяином сложны и определяются комплексом факторов, то предлагается рассматривать эти отношения в контексте трех различных, но не взаимоисключающих подходов (Kidwell, Lisch, 1997, 2001). 1. Мобильный элемент является эгоистическим компонентом генома (молекулярным паразитом), всегда «заинтересованным» в увеличении своих копий. 2. Взаимоотношение вида-хозяина с МЭ в равновесной системе носит характер «доместикации» МЭ в геноме, в результате которого вид-хозяин и МЭ «подстраиваются» и приходят к взаимно необременительному сосуществованию. 3. В ходе длительного сосуществования такой равновесной системы вид-хозяин использует возможности МЭ для организации целого ряда своих функций (геномный мутуализм).

1. Ген-хозяин, который участвует в репарации двунитевых разрывов, вызванных вырезанием транспозона, является компонентом селективного преимущества системы ДНК-репарации, однако в то же самое время он является и компонентом системы амплификации числа копий самого транспозона.

2. Делетированные (неполноразмерные) копии *P*-элемента (например – *KP*), которые супрессируют активность полноразмерного *P*-элемента, являются эгоистическими молекулярными паразитами автономных *P*-элементов, однако они в то же время являются компонентом системы, которая ограничивает амплификацию *P*-элементов.

3. Активность метилтрансферазы может действовать в качестве модулятора активности транспозона или вирусов, однако она в то же самое время может выступать в качестве регулятора транскрипции собственных генов хозяина в ходе развития.

Функция вовлеченного механизма в каждом конкретном случае зависит от природы действующих селективных сил.

В перспективе транспозируемые элементы все с большим основанием рассматриваются как важные факторы в способности геномов усиливать их собственную эволюцию и как главный источник эволюционного инструментария для генерирования наследственной изменчивости в ответ на изменения окружающей среды.

Настоящая работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-48838 и Программы фундаментальных исследований РАН № 11 «Биоразнообразие и динамика генофондов» подпрограмма 2 «Динамика генофондов» с использованием ресурсов ЦКП «Секвенирование ДНК» СО РАН (Новосибирск, <http://sequest.niboch.nsc.ru>).

Литература

- Берг Р.Л. Мутация «желтая» (*yellow*) в популяции *Drosophila melanogaster* г. Умани // Вестник Ленингр. ун-та. Сер. Биология. 1961. № 3. Вып. 1. С. 77–89.
- Ваулин О.В., Захаров И.К. Изменчивость гена *Adh* в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // Вестник Томского гос. ун-та. 2007. № 300(2). С. 109–112.
- Голубовский М.Д., Захаров И.К. Совместные реверсии двух нестабильных мутаций в X-хромосоме *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1979. Т. 15. № 9. С. 1599–1609.
- Голубовский М.Д., Захаров И.К., Соколова О.А. Анализ нестабильности аллелей гена *yellow*, выделенных из природной популяции дрозофил

- в период вспышки мутабельности // Генетика. 1987. Т. 23. № 9. С. 1595–1603.
- Голубовский М.Д., Иванов Ю.Н., Захаров И.К., Берг Р.Л. Исследование синхронных и параллельных изменений генофондов в природных популяциях плодовых мух *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1974. Т. 10. № 4. С. 72–83.
- Грачева Е.М., Захаров И.К., Волошина М.А. и др. Вспышки мутаций гена *yellow* в природной популяции *Drosophila melanogaster* связаны с инсерцией транспозона *hobo* // Генетика. 1998. Т. 34. № 4. С. 462–468.
- Захаренко Л.П., Захаров И.К., Волошина М.А. и др. Причина сохранения высокой нестабильности по гену *yellow* в линиях *Drosophila melanogaster*, выделенных в период «моды на мутацию» в популяции Умани // Генетика. 2004. Т. 40. № 3. С. 316–321.
- Захаренко Л.П., Захаров И.К., Романова О.А. и др. «Мода на мутацию» в природной популяции *Drosophila melanogaster* Умани вызвана распространением индуцированной *hobo*-элементом нестабильной инверсии регуляторной части гена *yellow* // Генетика. 2000. Т. 36. № 6. С. 740–748.
- Захаров И.К. Генетика природных популяций *Drosophila melanogaster*: колебание мутабельности и концентрации аллелей гена *singed* в природных популяциях // Генетика. 1984. Т. 20. № 8. С. 1295–1304.
- Захаров И.К. Мутации и мутационный процесс в природных популяциях *Drosophila melanogaster*: Дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики СО РАН, 1995. 48 с.
- Захаров И.К., Голубовский М.Д. Серия нестабильных аллелей гена *singed*, выделенных из природных популяций *Drosophila melanogaster*: закономерности мутирования // Генетика. 1984. Т. 20. № 7. С. 1117–1124.
- Захаров И.К., Голубовский М.Д. Возвращение моды на мутацию *yellow* в природной популяции *Drosophila melanogaster* г. Умани // Генетика. 1985. Т. 21. № 8. С. 1298–1305.
- Захаров И.К., Иванников А.В., Скибицкий Е.Э. и др. Генетические свойства аллелей генов X-хромосомы, выделенных из природных популяций *Drosophila melanogaster* в период вспышки мутаций // Докл. РАН. 1995. Т. 341. № 1. С. 126–129.
- Захаров И.К., Иванников А.В., Юрченко Н.Н. Динамика мутационного процесса и генофонд природных популяций *Drosophila melanogaster* // Современные концепции эволюционной генетики / Ред. В.К. Шумный, А.Л. Маркель. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2000. С. 151–159.
- Захаров И.К., Скибицкий Е.Э. Генетика нестабильных аллелей генов X-хромосомы, выделенных в период вспышки *yellow*-мутаций 1982–1991 гг. в природной популяции *Drosophila melanogaster* Умани // Генетика. 1995. Т. 31. № 8. С. 1079–1084.
- Захаров И.К., Юрченко Н.Н. Генетическая нестабильность. Анализ супермутабельных аллелей гена *singed* у *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1982. Т. 18. № 10. С. 1674–1682.
- Захаров И.К., Юрченко Н.Н. Совместное мутирование двух тесно сцепленных генов X-хромосомы в супермутабельных линиях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1984. Т. 20. № 2. С. 266–273.
- Иванников А.В., Голубовский М.Д., Коромыслов Ю.А., Захаров И.К. MR-хромосомы в Евразийских популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1995. Т. 31. № 2. С. 209–211.
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Характеристика инфицированности цитоплазматическим эндосимбионтом *Wolbachia* популяции *Drosophila melanogaster* Умани // Докл. РАН. 2007а. Т. 413. № 4. С. 561–563.
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Эндосимбионт *Wolbachia* в евразийских популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2007б. Т. 43. № 7. С. 905–915.
- Хесин Р.Б. Непостоянство генома. М.: Наука, 1984. 472 с.
- Четвериков С.С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики // Журн. общ. биологии. 1926. Сер. А. Т. 2. Вып. 1. С. 3–54; Т. 4. Вып. 4. С. 237–240.
- Четвериков С.С. Проблемы общей биологии и генетики. Новосибирск: Наука, 1983. 272 с.
- Чмуж Е.В., Шестакова Л.А., Волкова В.С., Захаров И.К. Разнообразие механизмов действия и функций ферментативных систем репарации повреждений ДНК у *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2006. Т. 42. № 4. С. 462–476.
- Чмуж Е.В., Шестакова Л.А., Коромыслов Ю.А. и др. Влияние мутаций генов системы ДНК-репарации на частоты мутирования нестабильных аллелей X-хромосомы *Drosophila melanogaster* // Докл. РАН. 2004. Т. 397. № 1. С. 138–141.
- Юрченко Н.Н., Захаров И.К., Голубовский М.Д. Плеяды нестабильных аллелей гена *singed* у дрозофилы и их связь с транспозоном, маркированным видимой мутацией // Генетика. 1984. Т. 20. № 6. С. 974–983.
- Юрченко Н.Н., О'Хэа К., Захаров И.К. Нестабильная система *sn⁴⁹* у *Drosophila melanogaster*: результаты блот-гибридизации и полимеразной цепной реакции // Генетика. 1996. Т. 32. № 5. С. 614–620.
- Юрченко Н.Н., Тэм Л.-Й., О'Хэа К., Захаров И.К. Влияние транспозона в локусе *singed* на реком-

- бинацию у *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1997. Т. 33. № 3. С. 333–338.
- Ashburner M. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. USA. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 1331 p.
- Banga S.S., Velazquez A., Boyd J.B. *P* transposition in *Drosophila* provides a new tool for analyzing postreplication repair and double-strand break repair // *Mutation Res. DNA Repair*. 1991. V. 255. P. 79–88.
- Berg R.L. Mutability changes in *Drosophila melanogaster* populations of Europe, Asia and North America and probable mutability changes in human populations of the USSR // *Jap. J. Genet.* 1982. V. 57. P. 171–183.
- Clark M.E., Anderson C.L., Cande J., Karr T.L. Widespread prevalence of *Wolbachia* in laboratory stocks and the implications for *Drosophila* research // *Genetics*. 2005. V. 170. P. 1667–1675.
- Engels W.R., Johnson-Schlitz D.M., Eggleston W.B., Sved J. High-frequency *P* element loss in *Drosophila* is homolog dependent // *Cell*. 1990. V. 62. № 3. P. 515–525.
- Geyer P.K., Corces V.G. Separate regulatory elements are responsible for the complex pattern of tissue-specific and developmental transcription of the *yellow* locus in *Drosophila melanogaster* // *Genes and Development*. 1987. V. 1. P. 996–1004.
- Glass B., Ritterhoff R.K. Spontaneous mutation rates at specific loci in *Drosophila* males and females // *Science*. 1956. V. 124. P. 314–315.
- Golubovsky M., Kaidanov L. Investigation of genetic variability in natural *Drosophila* populations // *Биополимеры и клетка*. 1994. Т. 10. № 5. С. 49–67.
- Golubovsky M.D., Zakharov I.K. Simultaneous reversions of two sex-linked unstable mutations // *Drosophila Inform. Serv.* 1980. № 55. P. 49–51.
- Gray Y.H.M. It takes two transposons to tango // *Trends Genet.* 2000. V. 16. № 10. P. 461–468.
- Hilgenboecker K., Hammerstein P., Schlattmann P. *et al.* How many species are infected with *Wolbachia*? – A statistical analysis of current data // *FEMS Microbiol. Lett.* 2008. V. 281. P. 215–220.
- Kidwell M., Lisch D. Transposable elements as sources of variation in animals and plants // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1997. V. 94. P. 7704–7711.
- Kidwell M.G., Lisch D.R. Perspective: Transposable elements, parasitic DNA, and genome evolution // *Evolution*. 2001. V. 55. № 1. P. 1–24.
- Lim J.K. Intrachromosomal rearrangements mediated by *hobo* transposons in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1988. V. 85. № 23. P. 9153–9157.
- Lim J.K., Simmons M.J. Gross chromosome rearrangements mediated by transposable elements in *Drosophila melanogaster* // *BioEssays*. 1994. V. 16. P. 269–275.
- Lindsley D.L., Grell E.H. Genetic variation of *Drosophila melanogaster*. *Cornegie Institution of Washington Publ.*, 1967. № 627.
- McClinton B. The significance of responses of the genome to challenge // *Science*. 1984. V. 226. № 4676. P. 792–801.
- Mercot H., Charlat S. *Wolbachia* infections in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: Polymorphism and levels of cytoplasmic incompatibility // *Genetica*. 2004. V. 120. P. 51–59.
- Mobile DNA / Eds D.E. Berg, M.V. Howe. *American Soc. Microbiol.* Washington, D.C. 1989.
- Nash W.G. Patterns of pigmentation color states regulated by the *y* locus in *Drosophila melanogaster* // *Dev. Biol.* 1976. V. 48. P. 336–343.
- O'Hare K., Tam J.L.-Y., Lim J.K. *et al.* Rearrangements at a *hobo* element inserted into the first intron of the *singed* gene in the unstable *sn*⁴⁹ system of *Drosophila melanogaster* // *Mol. Gen. Genet.* 1998. V. 257. № 4. P. 452–460.
- Shalet A. The distribution of and complementation relationships between spontaneous X-linked recessive lethal mutations recovered from crossing long-term laboratory stocks of *Drosophila melanogaster* // *Mutat. Res.* 1986. V. 163. P. 115–144.
- Schlötterer C., Neumeier H., Sousa C., Nolte V. Highly structured Asian *Drosophila melanogaster* populations: a new tool for hitchhiking mapping? // *Genetics*. 2006. V. 172. № 1. P. 287–292.
- Sentry J.W., Kaiser K. *P* element transposition and targeted manipulation of the *Drosophila* genome // *Trends Genet.* 1992. V. 8. № 10. P. 329–331.
- Starr D.J., Cline T.W. A host parasite interaction rescues *Drosophila* oogenesis defects // *Nature*. 2002. V. 418. P. 76–79.
- Werren J.H. Biology of *Wolbachia* // *Annu. Rev. Entomol.* 1997. V. 42. P. 587–609.
- Yurchenko N.N., Zakharov I.K., Golubovsky M.D. Unstable alleles of the *singed* locus in *Drosophila melanogaster* with reference to a transposon marked with a visible mutation // *Mol. Gen. Genet.* 1984. V. 194. № 1/2. P. 279–285.
- Zakharov I.K., Yurchenko N.N., Ivannikov A.V. *et al.* Mutability bursts and transposons in natural populations of *Drosophila melanogaster* // *Biodiversity and Dynamics of Ecosystems in North Eurasia*. V. 1. Part 1. Basic Problems of Species and Ecosystems Evolution. Novosibirsk, August 21–26, 2000. Novosibirsk: IC&G, 2000. P. 131–134.

SOURCES OF GENETIC VARIABILITY IN NATURAL POPULATIONS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

I.K. Zakharov, O.V. Vaulin, Yu.Yu. Ilinsky, Ya.Ya. Sinyansky, Yu.A. Koromyslov,
L.V. Kovalenko, A.V. Ivannikov, L.P. Zakharenko, M.A. Voloshina, S.V. Cheresiz,
N.N. Yurchenko

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: zakharov@bionet.nsc.ru

Summary

The genetic variability of populations is made up of two tightly related components: (1) the accumulated genetic variability maintained in the population (genetic polymorphism); (2) the persistently emerging *de novo* mutations (mutation process *sensu stricto* characterized by the range of mutations and the rate of mutation) that generate and enrich genetic polymorphism.

Methods and approaches for the analysis of those two components are different. One should emphasize that while genetic polymorphism present in the population at different levels (morphologic, biochemical, molecular) can be described as a pool of alleles and corresponding allele frequencies, it is not easy to directly isolate the mutation component (*de novo* emerging mutations) of this polymorphism. Usually, the characterization of mutation process is a laborious task requiring special experimental approaches and studies. In addition, the pool of alleles and allele frequencies do not fully describe the genetic variability of population, but rather serve as a material source, which is recombined and multiplied in a sophisticated way in the processes of cell reproduction and development of multicellular organism, as well as the processes of population dynamics (usually termed as microevolution) to generate this variability.

Genetic variability is determined by: (1) gene expression variability due to the environmental and epigenetic factors; (2) combinatorial variability; (3) all types of recombination; (4) genetic drift, gene flow between populations and, possibly, horizontal transfer. However, the processes involved in the generation of genetic variability are not limited to the above.

When comparative polymorphism analysis is attempted, the problem of extrapolation of the results obtained for a particular character or a set of characters to the polymorphism of other characters or the entire population gene pool polymorphism occurs. The character variability estimate depends to a large extent on the character under analysis and the method selected to study its polymorphism.

The sustained high mutability of particular locus can be caused by the following.

1. Locus mutability is a specific characteristic of interaction between the transposable elements (TE) and the target gene resulting into generation of a particular set of insertional alleles. Noteworthy, the insertional alleles can be both stable or unstable, and can mutate at different rates in generative or somatic cells. Instability of insertional alleles can result from chromosomal rearrangements in the course of recombination between neighbor TE's that may affect the locus.

2. Mutator genes that affect either specific target loci or the entire genome may spread across the population. In the former case, the mutability of particular genes is increased, in the latter, we observe the increased total genomic mutability.

3. Finally, one cannot rule out the effect of some unaccounted or completely unknown long-term factor. Still, we should clearly realize that this list of causes is far from being complete.

Transposable elements, as the facultative elements of the genome, co-evolve with the genome, and their role in the generation of genetic variability is logical to consider within the concept of coadaptive genome. Transposable elements are being currently considered as both the important factors facilitating the ability of genomes to evolve and the major source and evolutionary tool generating genetic variability in response to environmental changes.