

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ ДРОЗОФИЛЫ, ПРОЯВЛЯЮЩИХ ПОЗДНИЙ МАТЕРИНСКИЙ ЭФФЕКТ

Ю.В. Брагина, Н.Г. Молотова, Е.А. Камышева, С.А. Соболева, Н.Г. Камышев

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия,
e-mail: nkamster@gmail.com

Впервые обнаружены условные мутации материнских генов дрозофилы, оказывающие влияние на поведение потомства. Для поиска генов, проявляющих материнский эффект в отношении поведенческих признаков, использовали систему условной доксициклин-зависимой сверхэкспрессии генов при скармливании доксициклина матерям. Принудительная экспрессия материнских генов оказывала достоверное влияние на параметры поведения ухаживания и двигательной активности потомства у ~ 90 % из случайной выборки аутосомных генов дрозофилы. Эти формы поведения зависят от многих физиологических переменных, на которые, в свою очередь, оказывают влияние продукты очень многих генов. На фото- и геотаксис влияло весьма ограниченное число материнских генов. Для дальнейшего изучения отобраны гены, проявляющие наиболее сильный материнский эффект. Это позволяет приступить к выяснению молекулярных механизмов позднего материнского эффекта и установлению их возможной связи с механизмами долговременной памяти.

Введение

В исследованиях лаборатории сравнительной генетики поведения Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, выполненных сначала под руководством М.Е. Лобашева, а затем В.В. Пономаренко на таких объектах, как куры, пчелы и рыбы, было установлено, что передача многих адаптивных поведенческих признаков, в том числе и способности к обучению, происходит от родителей к потомкам по материнской линии (Пономаренко, 1959; Касимов, 1961; Лобашев и др., 1962; Пономаренко и др., 1964, 1969; Алексеевич и др., 1965; Касимов, Маршин, 1965; Маршин, 1969; Маршин и др., 1969; Рагим-заде, 1969). Помимо материнского наследования, обусловленного передачей внеядерных генов от матери к потомкам через ДНК таких органелл, как митохондрии и хлоропласты, а также геномного импринтинга, к передаче признаков по материнской линии чаще всего причастен материнский эффект, который проявляют многие ядерные гены. О материнском эффекте говорят, когда фенотип потомков определяется не их собственным генотипом, а генотипом матери (McClearn, 1998). Причиной материнского эффекта является тот

факт, что в оогенезе и на ранних стадиях эмбриогенеза продолжается экспрессия материнского генома благодаря наличию в ооците, а затем и в зиготе материнских мРНК и белков (Christians, 2003; Denney, Muñoz, 2003; Pelegri, 2003). Вполне естественно, что гены, проявляющие материнский эффект, были выявлены по мутациям, нарушающим эмбриональное развитие, причем большинство из них – сначала у дрозофилы (St Johnston, Nusslein-Volhard, 1992; Gilbert, 2003). В настоящее время у этого объекта известно несколько обширных групп генов, транскрипция которых осуществляется в организме матери, а экспрессия (функционирование продукта гена) – в организме потомков (Brody, 1996). Если в отношении нарушений раннего эмбриогенеза механизмы проявления материнского эффекта уже не представляют большой загадки, то вопрос о том, каким образом материнский эффект может проявляться на более поздних стадиях онтогенеза, в частности, в отношении поведенческих признаков взрослого организма, совсем не тривиален и абсолютно не изучен. Другие механизмы могут включать, например, влияние на нейрогенез, генерацию устойчивых эпигенетических состояний, прионизацию белков и т. д.

Одной из конечных целей данного исследования является экспериментальное выявление механизмов, на которых основано позднее проявление материнского эффекта. Требования к механизмам позднего материнского эффекта во многом сходны с требованиями, предъявляемыми к механизмам долговременной памяти, при которой индукция транскрипции генов в ограниченный отрезок времени приводит к длительным (пожизненным) изменениям в функционировании нейронов.

Другой конечной целью данной работы является установление возможной связи между механизмами позднего материнского эффекта и механизмами долговременной памяти.

Для идентификации генов дрозофилы, проявляющих материнский эффект, разные авторы применяли выделение рецессивных мутаций стерильности самок (обзор: St Johnston, Nusslein-Volhard, 1992), а также более изощренные методы с использованием генетических мозаиков, позволяющие идентифицировать гены с двойным проявлением: в ооците (материнский ген) и в зиготе (см.: Luschnig *et al.*, 2004). Для выявления влияния материнских генов на поведение взрослого потомства мы использовали принципиально другой метод: известную систему доксициклин-зависимой сверхэкспрессии генов, которую ранее применяли только для «зиготных» генов, в частности, для идентификации генов, влияющих на продолжительность жизни дрозофилы (Landis *et al.*, 2001).

Материалы и методы

Методом инсерционного мутагенеза (Cooley *et al.*, 1988) была создана коллекция из 1828 линий, несущих случайные вставки *P*-элемента в одной из аутосом. Перемещаемым из *X*-хромосомы неавтономным *P*-элементом служил *PdL* (*Ponce de Leon*) транспозон $P\{w^{+mC}Tn10\}tetO^{7x.hs}PdL$ (Landis *et al.*, 2001), содержащий маркерный ген *mini-white* и индуцируемый доксициклином синтетический промотор с семью повторами сайта связывания для трансактиватора транскрипции *rtTA* (reverse tetracycline trans activator).

Для индукции сверхэкспрессии гена каждую линию, несущую в гомозиготном состоянии случайную инсерцию *PdL*-транспозона, скрещивали с линией, несущей трансген *rtTA* (его

структура описана Bieschke *et al.*, 1998) в той хромосоме (2 или 3), в которой была локализована инсерция. Активация транскрипции гена, оказавшегося под контролем *TetO*-промотора, трансактиватором *rtTA* происходит только в присутствии доксициклина. В опыте (DOX+) самкам-матерям генотипа *PdL/rtTA* в течение первых трех дней после их вылупления из куколки скармливали доксициклин (0,25 мг на 1 мл питательной среды; doxycycline hyclate, Sigma-Aldrich). В контроле (DOX-) таких же самок содержали на среде без доксициклина. На четвертый день опытные и контрольные самки были оплодотворены *white*-самцами. Разобщение *TetO*-промотора и *rtTA*-активатора в обоих классах потомства (*PdL/+* и *rtTA/+*) служило дополнительной гарантией отсутствия активации зиготного гена.

Поведение тестировали у потомков-самцов в возрасте 5 суток. На первом этапе в качестве батареи поведенческих тестов использовали: тест на фототаксис, тест на геотаксис и компьютерный метод регистрации поведения ухаживания. Опыты с фото- и геотаксисом проводили при свете красного фотофонаря, к которому дрозофила не чувствительна.

В тесте на фототаксис экспериментального самца помещали в пробирку длиной 150 мм, закрывали ее пробкой, легким постукиванием стряхивали муху на дно и тут же, держа пробирку в горизонтальном положении, прикладывали ее верхнюю часть к локальному источнику света – люминесцентной лампе, работающей в мягком режиме без стартера и огражденной металлическими бортами, не пропускающими свет к другим частям пробирки. Регистрируемое время достижения особями разных линий освещенной части пробирки составляло в среднем от двух до десяти секунд.

В тесте на геотаксис после помещения самца в такую же пробирку и стряхивания его на дно пробирку держали вертикально и регистрировали время достижения мухой верха пробирки. Кроме того, регистрировали случаи, когда муха не достигала верха пробирки, а поворачивала вниз. Отсюда два критерия способности к геотаксису – время достижения мухой верха пробирки и доля особей, не достигших верха.

Регистрацию поведения ухаживания проводили с помощью компьютерной программы,

позволяющей путем нажатия на соответствующую клавишу фиксировать последовательность моментов начала каждого элемента поведения самца (эти элементы 1–10 поименованы в сноске к табл. 1). Наивного (не имеющего опыта общения с другими мухами) самца подсаживали в экспериментальную камеру к девственной самке линии дикого типа Canton-S того же возраста и вели регистрацию его поведения в течение 300 секунд или до достижения успешного спаривания. По завершении эксперимента программа вычисляла все необходимые параметры и статистики, в том числе те, которые представлены в табл. 1.

На втором этапе описанные выше трудоемкие методы были заменены на полностью автоматизированный метод регистрации параметров двигательного поведения. Хотя разработка программного обеспечения потребовала значительных усилий и времени, новый подход себя полностью оправдал, существенно сократив время, необходимое для тестирования мутантных линий. Веб-камера вела наблюдение одновременно за десятью особями, каждая из которых была помещена в камеру диаметром 15 мм и высотой 5 мм. В течение 10 минут с частотой 10 раз в

секунду программа производила определение координат нахождения каждой особи. Эти координаты и момент их определения записывались в файл этограммы. Анализирующий модуль программы проводил анализ и статистическую обработку результатов, включающий сравнение опыта (DOX+) с контролем (DOX-) для каждой мутантной линии. Для сравнения опыта и контроля использовали следующие параметры: 1) индекс активности, т. е. процент времени, занятого побежками; 2) частоту инициации побегов (в пересчете на 100 секунд регистрации); 3) длину побегов в миллиметрах; 4) длительность побежки в секундах; 5) скорость побежки (мм/с); 6) длительность пауз между побежками в секундах.

Во всех поведенческих тестах опытные и контрольные выборки были представлены двадцатью особями. В случае достоверных различий дисперсий между опытом и контролем достоверность различий между средними определяли *t*-критерием Уэлча, в случае их отсутствия – объединенным *t*-критерием.

Все программы для регистрации и анализа поведения дрозофилы были разработаны Н.Г. Камышевым с помощью лицензионной копии Delphi 7 Pro.

Таблица 1

Изменения параметров поведения ухаживания, сопутствующие материнскому эффекту в отношении фототаксиса

Линия	Параметр	Элементы поведения									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5558	Время (%)										
	Частота (с ⁻²)						<				
	Длительность (с)					>>>	>				
6249b	Время (%)							>			
	Частота (с ⁻²)										
	Длительность (с)					<<<	<				
6912	Время (%)										
	Частота (с ⁻²)										>
	Длительность (с)				<			<<<			<<

>, >>, >>> Сверхэкспрессия материнского гена приводит к увеличению или общего времени, занятого данным элементом поведения, или частоты исполнения, или длительности его отдельных эпизодов при $P < 0,05$; $P < 0,01$; $P < 0,001$ (двусторонний *t*-критерий).

<, <<, <<< Подобно для случаев достоверного уменьшения соответствующего параметра в опыте (DOX+) по сравнению с контролем (DOX-).

Элементы поведения: 1 – побежка; 2 – прининг; 3 – покой; 4 – ориентация; 5 – преследование; 6 – вибрация в покое; 7 – вибрация на бегу; 8 – лапанье; 9 – лизание; 10 – попытка копуляции.

Результаты и обсуждение

На первом этапе с использованием регистрации поведения ухаживания, фото- и геотаксиса удалось протестировать чуть более 100 линий.

Выявлены 3 *PdL*-линии, у которых между опытом (DOX+) и контролем (DOX-) имелись достоверные различия по способности к фототаксису (рис. 1). При этом у двух из них (5558 и 6249b) в опыте наблюдалось удлинение времени пробеге к свету (ослабление фототаксиса), а у одной (6912) – укорочение этого времени (усиление фототаксиса). Иными словами, сверхэкспрессия материнских генов в двух случаях привела к появлению дефекта поведения, а в одном случае – к исправлению дефекта, вызванного, по-видимому, недостаточной экспрессией гена в контроле в результате собственного эффекта инсерции. Все три инсерции были локализованы в хромосоме 2. Ни одна из упомянутых линий не проявляла материнского эффекта в отношении геотаксиса, но у всех из них наблюдался материнский эффект в отношении тех или иных параметров поведения ухаживания (табл. 1). Интересно, что у линий с ослабленным фототаксисом (5558 и 6249b) были затронуты практически одни и те же параметры поведения ухаживания, но материнский эффект двух разных генов приводил к противоположным их изменениям.

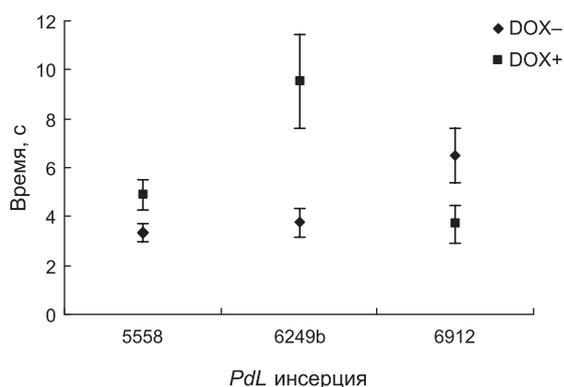


Рис. 1. Изменения способности к фототаксису в результате условной сверхэкспрессии материнских генов в опыте (DOX+) по сравнению с контролем (DOX-).

По вертикали – время, необходимое мухе для достижения освещенной части пробирки. Показаны средние значения и их стандартные ошибки. $P < 0,05$ для 5558 и 6912; $P < 0,01$ для 6249b (двусторонний t-критерий).

Выявлено 6 *PdL*-линий, у которых между опытом и контролем наблюдались достоверные различия по способности к геотаксису (рис. 2). У трех из них условная сверхэкспрессия материнских генов вызывала ослабление геотаксиса (удлинение времени достижения верха пробирки или увеличение доли не дошедших до верха мух), у трех других – усиление геотаксиса по сравнению с контролем. У всех шести линий наблюдалось влияние материнской сверхэкспрессии генов и на поведение ухаживания (табл. 2). При этом каких-либо закономерностей в изменении параметров поведения ухаживания у данных линий в связи с изменениями у них геотаксиса не наблюдалось.

Как мы видели, вызванные материнским эффектом отклонения фото- и геотаксиса всегда сопровождалась отклонениями в поведении ухаживания. Действительно, те или иные отклонения поведения ухаживания в опыте по сравнению с контролем наблюдались у более чем 90 % проанализированных мутантных линий. Особенно часто наблюдаются высокодостоверные различия в длительности отдельных эпизодов разных элементов поведения. Однако

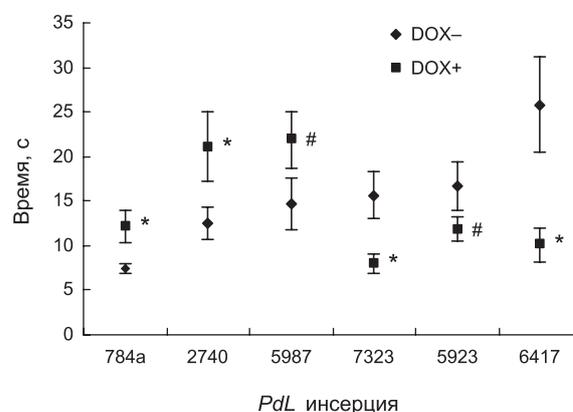


Рис. 2. Изменения способности к геотаксису в результате условной сверхэкспрессии материнских генов в опыте (DOX+) по сравнению с контролем (DOX-).

По вертикали – время достижения мухой верха пробирки. Показаны средние значения и их стандартные ошибки.

* Достоверны различия между опытом и контролем по времени достижения верха пробирки, $P < 0,05$ (двусторонний t-критерий). # Достоверны различия между опытом и контролем по доле мух, не достигших верха пробирки (повернувших вниз), $P < 0,05$ (двусторонний z-критерий для сравнения долей). Направленность данных различий (ослабление или усиление геотаксиса) совпадает с направленностью тенденций в изменении времени достижения верха пробирки.

Таблица 2

Изменения параметров поведения ухаживания, сопутствующие материнскому эффекту
в отношении геотаксиса

Линия	Параметр	Элементы поведения									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
784a 2	Время (%)	>		>							
	Частота (с ⁻²)	>		>							
	Длительность (с)	>>				>				<<	
2740 3	Время (%)	<<			>>					>	
	Частота (с ⁻²)	<		<<						>	
	Длительность (с)				>>>	<<<<	>	>>			
5987 3	Время (%)							<		<	
	Частота (с ⁻²)									<	
	Длительность (с)							<<<<			
7323 2	Время (%)							>			
	Частота (с ⁻²)							>			
	Длительность (с)							>			
5923 2	Время (%)										
	Частота (с ⁻²)										
	Длительность (с)					<	<<				
6417 3	Время (%)										
	Частота (с ⁻²)										
	Длительность (с)				<<	>				>	

Обозначения см. в табл. 1. Под названием каждой линии указана хромосома, в которой локализован *PdL*-транспозон.

у всех линий характер отклонений поведения был очень разным. Последнее свидетельствует о том, что они вызваны не непосредственным влиянием доксициклина, а зависимой от него сверхэкспрессией разных генов в материнском организме.

Такая высокая частота встречаемости значимых эффектов, на первый взгляд, представляется удивительной. Но она объясняется тем, что параметры поведения ухаживания зависят от очень многих физиологических переменных (перцептивных, моторных, интегративных), на совокупность которых оказывают влияние продукты очень многих генов. Таким образом, принудительная экспрессия в материнском организме более чем 90 % генов сказывается на поведении потомства. Число генов, которые экспрессируются в материнском организме в норме (без принудительной экспрессии) и влияют на поведение потомства, может быть значительно меньшим.

По-видимому, при поиске генов, проявляющих материнский эффект, следует не обращать внимание на любое изменение поведения, а стараться выявлять наиболее сильные эффекты, используя для этого интегральные поведенческие параметры. Таковыми наряду со способностью к фототаксису и геотаксису могут быть индекс ухаживания и индекс локомоторной активности. К настоящему времени обнаружено 7 линий, у которых сверхэкспрессия материнских генов приводит к достоверным изменениям индекса ухаживания, который показывает выраженную в процентах долю времени, занятого ухаживанием (рис. 3). По индексу активности, который в данном случае определялся как процент времени, занятого любыми элементами поведения, связанными с локомоцией (включая преследование самки и вибрацию на бегу), выявлены 3 *PdL*-линии, проявляющие материнский эффект (рис. 4). Однако ни по индексу ухаживания, ни

по индексу активности не наблюдалось очень сильных (близких к качественным) различий между опытом и контролем. Тем не менее о достаточно хорошей выраженности и устойчивости эффекта сверхэкспрессии материнских генов на поведение потомства можно судить по одновременному изменению у мутантных линий в опыте по сравнению с контролем нескольких интегральных поведенческих характеристик. В этом отношении привлекает внимание линия 2740, у которой в опыте наблюдается ослабление геотаксиса (рис. 2), увеличение индекса ухаживания (рис. 3) и снижение индекса активности (рис. 4). Основными причинами изменения двух последних интегральных характеристик в опыте являются: снижение частоты инициации побегов (табл. 2), резкое удлинение непрерывных сеансов ухаживания ($P < 0,01$), укорочение непрерывных периодов активности ($P < 0,001$) и удлинение непрерывных периодов неактивности ($P < 0,001$; данные по трем последним характеристикам в таблице не показаны). Увеличение времени достижения верха пробирки (рис. 2) в данном случае также, скорее, вызвано не собственно ослаблением геотаксиса, а изменением локомоторных характеристик. К линиям, проявляющим в опыте одновременное изменение двух интегральных параметров, относятся линия 784a (ослабление геотаксиса и снижение индекса ухаживания) и

линия 5987 (ослабление геотаксиса и снижение индекса активности).

На втором этапе с использованием специально разработанного полностью автоматизированного метода регистрации параметров двигательного поведения было проанализировано около 250 *PdL*-линий. Большинство мутантных линий проявляло те или иные статистически значимые отклонения двигательного поведения самцов в опыте по сравнению с контролем. Это свидетельствует о том, что использованный метод анализа параметров двигательной активности, так же, как и ранее используемый метод анализа поведения ухаживания, является очень чувствительным тестом для выявления эффектов индуцированной сверхэкспрессии материнских генов. Чтобы выявить наиболее сильные эффекты, которые можно было бы подвергнуть дальнейшему анализу, было использовано два приема. Во-первых, учитывали только высокодостоверные различия между опытом и контролем при вероятности нулевой гипотезы $P < 0,001$. Во-вторых, были введены количественные ограничения на те эффекты, которые будут подвергнуты дальнейшему анализу: если уменьшение среднего значения – то уменьшение не менее чем на треть; а если увеличение среднего значения – то увеличение не менее чем в полтора раза. Это позволило резко снизить число линий, представляющих

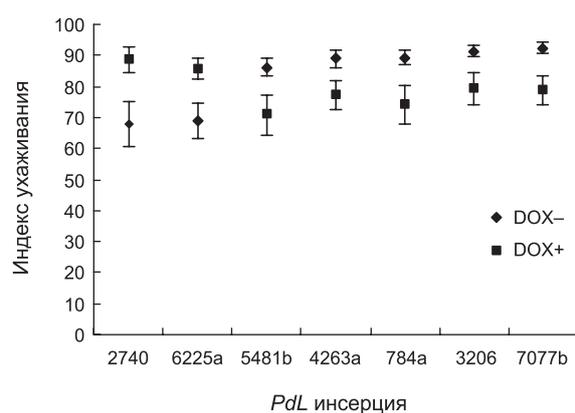


Рис. 3. Изменения индекса ухаживания в результате условной сверхэкспрессии материнских генов в опыте (DOX+) по сравнению с контролем (DOX-).

Показаны средние значения и их стандартные ошибки. Для всех показанных *PdL*-инсерций $P < 0,05$ (двусторонний *t*-критерий).

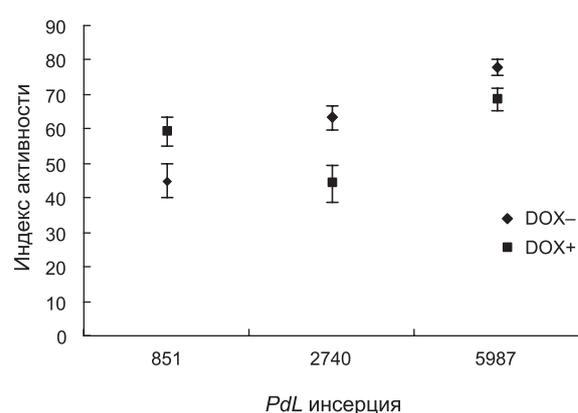


Рис. 4. Изменения индекса активности в результате условной сверхэкспрессии материнских генов в опыте (DOX+) по сравнению с контролем (DOX-).

Показаны средние значения и их стандартные ошибки. $P < 0,01$ для линии 2740, для двух остальных линий $P < 0,05$ (двусторонний *t*-критерий).

интерес для дальнейших исследований (табл. 3). Отобраны две линии (2895a и 4378), у которых в условиях сверхэкспрессии материнских генов не менее чем на одну треть снижен индекс активности, причем это снижение явным образом является следствием снижения частоты инициации побегов и увеличения пауз между ними. Шесть линий (2796b, 661, 4278b, 4977b, 2262c, 2919) отобраны по признаку увеличения в опыте пауз между побежками. Часть из них может быть более слабыми вариантами линий, принадлежащих к первому классу. Но две из них (2262c и 2919) отличаются также снижением продолжительности побежки, что делает их более сходными с линией 1292b (третий класс), отобранной именно по этому параметру. И наконец, у двух линий (460 и 5920a) наблюдалось увеличение продолжительности побежки.

У всех *PdL*-линий, отобранных как по использованному ранее комплексу поведенческих признаков (фото- и геотаксис, поведение ухаживания), так и по параметрам двигатель-

ного поведения, в настоящее время изучаются особенности проявления долговременной памяти в условиях зиготной сверхэкспрессии соответствующих генов. Готовятся эксперименты по определению зараженности отобранных линий симбиотической бактерией *Wolbachia*, которая распространена в лабораторных линиях дрозофилы (Clark *et al.*, 2005) и, будучи чувствительной к доксициклину (Hoerauf *et al.*, 2003), может являться причиной различий между опытом и контролем независимо от способности доксициклина индуцировать сверхэкспрессию генов в используемой системе. Готовится ПЦР-клонирование генов, попавших под управление промотора *PdL*-транспозона. Все это позволит идентифицировать по крайней мере некоторые гены, проявляющие поздний материнский эффект, и ответить на вопрос о возможном сходстве молекулярных механизмов позднего материнского эффекта и молекулярных механизмов нейробиологической долговременной памяти.

Таблица 3

Мутантные линии, отобранные для дальнейших исследований по результатам автоматизированного теста на различия между опытом (DOX+) и контролем (DOX-) по параметрам двигательного поведения

Линия	Индекс активности (%)	Частота побегов (с ⁻²)	Длина побежки (мм)	Продолжительность побежки (с)	Скорость побежки (мм/с)	Продолжительность паузы (с)	ПС
2895a	0,67***	0,63***				3,34***	1
4378	0,54***	0,50***				3,10***	1
2796b	0,66**	0,66**			0,93***	3,21***	2
661	0,80*	0,80*				2,10***	2
4278b	0,87*					1,63***	2
4977b						1,69***	2
2262c	0,77*		0,73***	0,86*	0,86***	2,31***	2
2919	0,88***		0,81**	0,83**	0,97*	1,68***	2
1292b	0,71*		0,53***	0,64***	0,86***		3
460			1,84***	1,54***	1,33***		4
5920a	1,45**		2,13***	1,75***	1,16***		4

Для случаев достоверных различий между опытом и контролем показано отношение средних значений (опыт/контроль). * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

ПС – принцип селекции: 1 – снижение двигательной активности вследствие уменьшения частоты инициации побегов; 2 – увеличение продолжительности пауз; 3 – снижение продолжительности побегов; 4 – увеличение продолжительности побегов. Длина побежки не использовалась для селекции, так как она является переменной, зависимой от продолжительности и скорости побежки.

Благодарности

Работа поддержана грантом РФФИ № 04-04-48496, Программой фундаментальных исследований РАН «Биоразнообразии и динамика генофондов», Научной программой Санкт-Петербургского научного центра РАН. Авторы признательны Джону Тауэру (J. Tower, University of Southern California, Los Angeles, CA, USA) за безвозмездное предоставление созданных в его лаборатории линий дрозофилы.

Литература

- Алексеевич Л.А., Пономаренко В.В., Смирнова Г.П. Сравнительно-генетическое исследование свойств высшей нервной деятельности у кур при межпородном скрещивании. I. Изучение особенностей нервных процессов в реципрокном скрещивании пород австралорп и плимутрок // Физиология и патология высшей нервной деятельности. Научные сообщения Ин-та физиологии им. И.П. Павлова. М.; Л.: Наука, 1965. Вып. 3. С. 8–11.
- Касимов Р.Ю. Суточный ритм двигательной активности видов осетровых рыб и их гибридов // Зоол. журнал. 1961. Т. 11. № 1. С. 63–72.
- Касимов Р.Ю., Маршин В.Г. О развитии реакции на световые раздражители в раннем онтогенезе у некоторых видов осетровых рыб и их гибридов // Физиология и патология высшей нервной деятельности. Научные сообщения Ин-та физиологии им. И.П. Павлова. М.; Л.: Наука, 1965. Вып. 3. С. 55–59.
- Лобашев М.Е., Касимов Р.Ю., Маршин В.Г. Наследование некоторых свойств высшей нервной деятельности при межвидовой гибридизации // Изв. АН СССР. Сер. биол. 1962. № 1. С. 56–69.
- Маршин В.Г. Исследование общей двигательной активности реципрокных гибридов осетра и стерляди // Генетика поведения. Л.: Наука, 1969. С. 155–160.
- Маршин В.Г., Пономаренко В.В., Смирнова Г.П. Наследование некоторых особенностей поведения при межвидовой гибридизации осетровых // Генетика, селекция и гибридизация рыб. М.: Наука, 1969. С. 192–208.
- Пономаренко В.В. Сравнительно-генетическое исследование свойств высшей нервной деятельности у кур при межпородном скрещивании. I. Изучение особенностей высшей нервной деятельности у гибридов первого поколения пород плимутрок и австралорп // Научные сообщения Ин-та физиологии им. И.П. Павлова. Л.: Изд-во АН СССР, 1959. Вып. 2. С. 104–107.
- Пономаренко В.В., Маршин В.Г., Лобашев М.Е. Изучение наследования свойств высшей нервной деятельности при межпородных и межвидовых реципрокных скрещиваниях // Исследования по генетике. Л.: Изд-во ЛГУ, 1964. Вып. 2. С. 8–20.
- Пономаренко В.В., Савватеев В.Б., Смирнова Г.П. О наследовании порога возбудимости (реобазы) нервно-мышечного аппарата у кур в связи с силой возбудительного процесса // Генетика поведения. Л.: Наука, 1969. С. 43–50.
- Рагим-заде М.С. Изучение характера наследования свойств нервных процессов у реципрокных гибридов двух рас медоносных пчел в связи с наследованием пищедобывательной активности // Генетика поведения. Л.: Наука, 1969. С. 50–61.
- Bieschke E.T., Wheeler J.C., Tower J. Doxycycline-induced transgene expression during *Drosophila* development and aging // Mol. Gen. Genet. 1998. V. 258. № 6. P. 571–579.
- Brody T.B. 1996. available at <http://chervil.bio.indiana.edu:7092/allied-data/lk/interactive-fly/aimain/4matrnl.htm>
- Christians E.S. Quand la mère est plus que responsable du devenir de sa progéniture: les mutations à effet maternel // Med. Sci. (Paris). 2003. V. 19. № 4. P. 459–464.
- 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. № 4. P. 1667–1675.
- Cooley L., Kelley R., Spradling A. Insertional mutagenesis of the *Drosophila* genome with single *P* elements // Science. 1988. V. 239. № 4844. P. 1121–1128.
- Denney E.M., Muñoz C.X. Update. The Role of maternal effect genes in axis formation. 2003. available at <http://7e.devbio.com/article.php?ch=9&id=95>.
- Gilbert S.F. 2003. Developmental biology online. Chapter 9. The genetics of axis specification in *Drosophila*. available at <http://7e.devbio.com/article.php?ch=9&id=94>
- Hoerauf A., Mand S., Fischer K. *et al.* Doxycycline as a novel strategy against bancroftian filariasis-depletion of *Wolbachia* endosymbionts from *Wuchereria bancrofti* and stop of microfilaria production // Med. Microbiol. Immunol. (Berl). 2003. V. 192. № 4. P. 211–216.
- Landis G., Bhole D., Lu L., Tower J. High-frequency generation of conditional mutations affecting *Drosophila* development and life span // Genetics. 2001. V. 158. № 3. P. 1167–1176.
- Luschnig S., Moussian B., Krauss J. *et al.* An F1 genetic screen for maternal-effect mutations affecting embryonic pattern formation in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 2004. V. 167. № 1. P. 325–342.
- McClellan P. 1998. available at <http://www.ndsu.nodak.edu/>

instruct/mcclean/plsc431/maternal/maternal1.htm
Pelegri F. Maternal factors in zebrafish development //
Dev. Dyn. 2003. V. 228. № 3. P. 535–554.

St Johnston D., Nüsslein-Volhard C. The origin of
pattern and polarity in the *Drosophila* embryo //
Cell. 1992. V. 68. № 2. P. 201–219.

REVEALING DROSOPHILA GENES WITH LATE MATERNAL EFFECT

J.V. Bragina, N.G. Molotova, E.A. Kamysheva, S.A. Soboleva, N.G. Kamyshev

Pavlov Institute of Physiology RAS, St. Petersburg, Russia, e-mail: nkamster@gmail.com

Summary

For the first time, conditional mutations of *Drosophila* maternal genes, affecting the offspring behavior, have been revealed. To screen for maternal effect behavioral mutations, the system of doxycycline-dependent conditional gene overexpression was used, where doxycycline was fed to mothers. The forced expression of maternal genes influenced parameters of courtship and locomotion in ~ 90 % of cases from the random sample of autosomal *Drosophila* genes. These behaviors depend on many physiological variables, which, in turn, are influenced by products of many genes. Photo- and geotaxis, in contrast, were affected by a very restricted number of maternal genes. The genes showing the strongest maternal effects were selected for further studies. This allows to start examination of the molecular mechanisms of late maternal effect and their possible similarity to the mechanisms of long-term memory.