

ИНДУКЦИЯ ТРАНСПОЗИЦИЙ МОБИЛЬНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ГЕНОМЕ *DROSOPHILA MELANOGASTER* РАЗЛИЧНЫМИ СТРЕССОВЫМИ ФАКТОРАМИ

Л.А. Васильева^{1,2}, О.В. Выхристюк¹, О.В. Антоненко¹, И.К. Захаров^{1,2}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: ratner@bionet.nsc.ru;

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

Проанализированы скорости индукции транспозиций мобильных генетических элементов (МГЭ) в изогенных линиях *Drosophila melanogaster* после обработки самцов стрессовыми факторами: тепловой шок (ЛТШ), тяжелый температурный шок (ТТШ), пары этанола, γ -облучение. Исследован процесс изогенизации как фактор, активирующий транспозиции МГЭ. Показано, что стресс способен увеличивать скорость транспозиций МГЭ на 1–2 порядка величин по сравнению со спонтанным уровнем индукции. Так, наша максимальная экспериментальная оценка спонтанной скорости индукции транспозиций составляет $3,8 \cdot 10^{-4}$ – $1,8 \cdot 10^{-3}$, тогда как шоковый температурный стресс увеличивает скорость индукции транспозиций до $1,1 \cdot 10^{-1}$ на сайт, на геном, за поколение. Пары этанола (1,5–3,0 мин) увеличивают скорость транспозиций до $6,9 \cdot 10^{-2}$, γ -облучение – до $1,9 \cdot 10^{-2}$. Однако самым мощным индуктором транспозиций оказался процесс изогенизации ($\lambda = 3,1 \cdot 10^{-1}$ – $3,8 \cdot 10^{-1}$) на сайт, на геном, за поколение. Таким образом, экспериментально показано, что любой из проанализированных стрессовых факторов является индуктором транспозиций мобильных генетических элементов. Увеличение скоростей индукции транспозиций МГЭ при стрессовых воздействиях способствует созданию в линиях (популяциях) дополнительного генетического разнообразия, что может иметь большое значение для выживания популяций, попадающих в новые экологические условия, а также для селекции и эволюции.

Введение

Мобильные генетические элементы (МГЭ) представляют собой подвижную часть эукариотического генома. У *Drosophila melanogaster* и *Arabidopsis* они занимают около 28 % ядерного генома и принадлежат примерно к 50 семействам (Finnegan, 1992; Mobile DNA ..., 2002; Biemont, Vieira, 2005). Транспозиции МГЭ являются формой их автономного самовоспроизведения, регулируемого в пределах клетки различными механизмами обратной связи. Экспериментальные оценки скоростей спонтанных транспозиций различных МГЭ *D. melanogaster* колеблются в интервале 10^{-3} – 10^{-5} событий на сайт, на спермий, за поколение (Engels, 1989; Narada *et al.*, 1990).

В настоящее время имеется достаточно большое количество исследований, в которых продемонстрирован феномен индукции транспозиций

и эксцизий МГЭ различными внешними и физиологическими факторами, среди которых основную роль играют тепловой и холодовой шок, γ -облучение, инбридинг, изогенизация и селекция. Д.Дж. Стренд и Дж.Ф. МакДональд (Strand, McDonald, 1985) продемонстрировали индукцию транскрипции ретротранспозона *copia* (первый необходимый этап ретротранспозиции) тепловым шоком у дрозофилы. Н. Юнакович с соавторами (Junakovic *et al.*, 1986) методом блот-гибридизации по Саузерну обнаружили индукцию транспозиций и эксцизий ретротранспозонов 297, *mdg2*, *B104*, *mdg1* и *copia* при воздействии на самцов дрозофилы тепловым шоком. Л.А. Васильева с соавторами (Vasilyeva *et al.*, 1988, Ratner *et al.*, 1992; Васильева и др., 1995) обнаружили последствия транспозиций и эксцизий ретротранспозонов *mdg1*, *mdg2*, *copia*, а также *I* и *jockey* в гетерогенной линии дрозофил, подвергнутой ступенчатому

температурному воздействию в чувствительные периоды развития куколок. Позже этими же авторами был доказан феномен индукции транспозиций МГЭ *mdg2* и *B104* в нескольких изогенных линиях (Ратнер, Васильева, 1992а, б; Аникеева и др., 1994; Забанов и др., 1994) и изучены закономерности индукции. Позднее было установлено явление индукции транспозиций МГЭ *mdg2* в изогенной линии дрозофил γ -облучением (Забанов и др., 1995).

Наиболее изученным вариантом индукции транспозиций генетическими факторами являются дисгенные скрещивания в системах дисгенеза Р-М (Engels, 1989), I-R (Bucheton, 1990), H-E (Blackman, Gelbart, 1989). Кроме того, обнаружена генетическая нестабильность, ведущая к «транспозиционным взрывам» в отдельных клетках гаметного пути дрозофилы (Герасимова, 1990); вспышки транспозиций, сопровождающие перевод клеток тканей в клеточную структуру (Di Franco *et al.*, 1992). В ряде случаев показано, что частоты транспозиций и эксцизий возрастают при инбридинге, аутбридинге и особенно – при изогенизации линий. Так, С. Бьемон с соавторами (Biemont *et al.*, 1987; 1990) обнаружили «взрывы» транспозиций МГЭ *copia* и *P*-элемента в некоторых высокоинбредных линиях дрозофил. С. Ди Франко с соавторами (Di Franco, 1993) обнаружили избыточную гетерозиготность МГЭ *copia*, *gypsy*, *jockey* и *I* в инбредных линиях, объяснив этот факт возможной индукцией транспозиций мобильных элементов. Е.Г. Пасюкова с соавторами (Pasyukova *et al.*, 1988) и Л.З. Кайданов с соавторами (Kaidanov *et al.*, 1991) обнаружили индуцирующее влияние на транспозиции МГЭ инбридинга. В.А. Ратнер и Л.А. Васильева (Ратнер, Васильева, 1996) обнаружили весьма высокую индукцию транспозиций и эксцизий *mdg2* при изогенизации гетерогенных линий по трем большим хромосомам с помощью балансерной линии. Д.П. Фурман и Т.А. Бухарина (1996а, б) выявили у дрозофилы сильную индукцию транспозиций при повторной изогенизации по хромосомам 2 и 3. На линиях, длительное время селективируемых на изменение одной из компонент приспособленности дрозофил, это явление было также обнаружено Л.З. Кайдановым с соавторами (1994) для МГЭ *hobo*.

Таким образом, с одной стороны, феномен индукции транспозиций обнаружен, подтвержден на различных линиях дрозофилы и с различными МГЭ. Однако, с другой стороны, в некоторых исследованиях не выявлено увеличения скоростей индукции транспозиций при шоковом воздействии на самцов дрозофилы. Прежде всего, на наш взгляд, это связано с тем, что индукция транспозиций найдена исследователями не в каждой из анализируемых линий, не с каждым МГЭ и не для каждой обработанной особи (Biemont *et al.*, 1987; Arnault, Biemont, 1989; Arnault *et al.*, 1991; Biemont, 1993; Arnault, Dufournel, 1994; Guerreiro, Biemont, 1995).

Поэтому нам представляется актуальным считать полученные нами материалы обширных исследований по индукции транспозиций мобильных генетических элементов различными внешними стрессовыми факторами, такими, как температурный шок, пары этанола, γ -облучение, и физиологическими стрессовыми факторами (аутбридинг, инбридинг и процесс изогенизации в целом).

Материалы и методы

В качестве объекта исследования использована гетерогенная лабораторная линия (*ri^C*) *Drosophila melanogaster*, несущая мутацию *radius incompletus*, *ri*; 3-46,8сМ и несколько изогенных линий, выведенных из линии *ri^C* с помощью балансерной линии *M5;Cy Pm;D Sb* (Ратнер, Васильева, 1996). Самцов из изогенных линий *Drosophila melanogaster* подвергали различным стрессовым воздействиям.

1. Легкий тепловой шок (ЛТШ) – однократное воздействие на самцов $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 1 часа.

2. Тяжелый температурный шок (ТТШ) – воздействие на самцов $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 1 часа, затем $t = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 1 часа. Процедуру повторяли трехкратно.

3. Пары этанола – самцов помещали в колбу, в которую подавали пары этанола в течение 1,5; 2 и 3 минут.

4. γ -облучение – самцов подвергали облучению дозами 3 Гр (2 час. 30 мин 120 Р/ч), 8 Гр (3 час. 20 мин, 230 Р/ч) и 30 Гр (4 час. 18 мин, 300 Р/ч). Облучение проводили на γ -установке «Кобальт-60».

Изогенизацию осуществляли путем перевода особей из контрольной гетерогенной линии ri^C на изогенную основу с помощью предварительно выведенной нами балансерной линии $M5;Cy Pm;D Sb$, обладающей запирателями кроссинговера по трем большим хромосомам. В конечном итоге особи изогенной линии обладали удвоенным гаплоидным набором 3 больших хромосом, т. е. были полностью гомозиготны. Изогенизация сопровождалась контролем рисунка МГЭ $mdg2$ на основных этапах этого процесса (аутбридинг и инбридинг). Первоначально было проанализировано 10 изогенных линий и в последующем было выведено еще 8 изогенных линий и проведен дополнительный анализ суммарно по 18 изогенным линиям.

Выявление термочувствительных стадий сперматогенеза осуществляли путем обработки самцов шоковой температурой на стадии митотических делений, роста сперматоцитов, стадии мейотических делений и стадии спермиогенеза.

Во всех случаях обработанных самцов скрещивали с необработанными виргинными самками той же изогенной линии и у потомков F_1 анализировали рисунок МГЭ.

Основными методами исследования паттернов (рисунков) МГЭ являлись гибридизация *in situ* зондов, содержащих фрагменты ДНК МГЭ $mdg1$ и $mdg2$. Фрагменты были встроены в вектор и мечены радиоактивной меткой (H^3 -Т), и использован метод флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH).

Скорость индукции транспозиций МГЭ оценивали по формуле:

$$\lambda = \frac{\Delta n \times m}{n \times (m - n)},$$

где λ – скорость индукции транспозиций МГЭ на сайт, на геном, за поколение; Δn – среднее число возникших *de novo* транспозиций на выборку; n – число сайтов с копиями МГЭ в исходной изогенной линии до обработки; m – общее число позиций конкретного МГЭ в геномах всех линий: в гетерогенной линии ri^C и в 18 изогенных линиях, выведенных из ri^C . Так, минимальное число сайтов, в которых были обнаружены нами копии МГЭ $mdg2$, равно 86, а для $mdg1$ – 84. Всего в экспериментах было проанализировано 975 давленных препаратов

слонных желез *Drosophila melanogaster*, из них 739 препаратов после стрессовой обработки и 236 препаратов контроля.

Результаты и обсуждение

Общие итоги воспроизведения феномена индукции транспозиций МГЭ различными стрессовыми факторами представлены в табл. 1. Скорости индукции транспозиций были оценены в интервале значений при различных **стрессовых температурных воздействиях** от $3,4 \cdot 10^{-2}$ до $1,1 \cdot 10^{-1}$ на сайт, на геном, за поколение против $3,3 \cdot 10^{-4}$ – $1,8 \cdot 10^{-3}$ спонтанных скоростей транспозиций в контрольных выборках. Как видно, такие значения скоростей транспозиций МГЭ в опытных выборках намного выше контрольных спонтанных транспозиций. Более того, следует заметить, что контрольные (спонтанные) оценки завышены вследствие того, что принимается предположение о возможности возникновения хотя бы одной транспозиции, несмотря на то, что в исходных выборках изогенных линий спонтанных транспозиций не обнаружено. Воздействие на самцов дрозофилы жестким температурным шоком увеличивает скорость транспозиций суммарно по двум экспериментам не менее чем на 2 порядка величин по сравнению с контролем и достигает 0,11 событий на сайт исходной изогенной линии, на спермий, за поколение. Это огромная величина, сравнимая только со скоростью транспозиций P -элемента при дисгенном скрещивании типа $\text{♀M} \times \text{♂P}$.

Таким образом, феномен индукции транспозиций при помощи жесткого температурного шока в изогенной линии дрозофил можно считать доказанным. Кроме того, были исследованы **стадии сперматогенеза у самцов** на предмет выявления наиболее «чувствительной» стадии к температурному воздействию (табл. 2). Из данных, представленных в табл. 2, видно, что как при тепловом, так и при холодном шоке все стадии сперматогенеза практически в равной степени «чувствительны» к шоковому температурному воздействию. Эти данные являются серьезным подтверждением того, что шоковая температура является фактором, активирующим транспозиции МГЭ.

Пары этанола индуцируют транспозиции МГЭ со скоростями, сопоставимыми с воз-

Таблица 1

Сводная таблица оценки скоростей индукции транспозиций МГЭ *mdg2* в контрольных линиях *Drosophila melanogaster* и после стрессового воздействия

| Изогенные линии | Вариант | Число слюнных желез | <i>n</i> | Δn | λ – скорость транс-позиций |
|-----------------------|--------------------------|---------------------|----------|------------|------------------------------------|
| № 51 | Без обработки (контроль) | 27 | < 1 | < 0,037 | $< 1,8 \cdot 10^{-3}$ |
| | ТТШ (1) | 54 | 38 | 0,75 | $3,8 \cdot 10^{-2}$ |
| | ТТШ (2) | 85 | 193 | 2,27 | $1,1 \cdot 10^{-1}$ |
| | Пары этанола: | | | | |
| | 1,5 мин. | 21 | 8 | 0,38 | $3,7 \cdot 10^{-2}$ |
| | 2,0 мин. | 13 | 12 | 0,92 | $6,9 \cdot 10^{-2}$ |
| | 3,0 мин. | 19 | 10 | 0,53 | $6,2 \cdot 10^{-2}$ |
| № 49 | Без обработки (контроль) | 167 | < 1 | < 0,006 | $< 3,3 \cdot 10^{-4}$ |
| | ЛТШ | 49 | 30 | 0,61 | $3,4 \cdot 10^{-2}$ |
| | ТТШ | 312 | 408 | 1,31 | $7,2 \cdot 10^{-2}$ |
| | γ -облучение: | | | | |
| | 3 Гр | 42 | 3 | 0,071 | $0,4 \cdot 10^{-2}$ |
| | 8 Гр | 52 | 10 | 0,192 | $1,1 \cdot 10^{-2}$ |
| | 30 Гр | 44 | 15 | 0,340 | $1,9 \cdot 10^{-2}$ |
| 10 изогенных линий | Контроль, ri^C | 42 | < 1 | < 0,024 | $< 1,3 \cdot 10^{-3}$ |
| | 10 | 10 | 63 | 6,3 | $3,1 \cdot 10^{-1}$ |
| 18 изогенных линий | 18 | 18 | 138 | 7,67 | $3,8 \cdot 10^{-1}$ |

Примечание. ЛТШ – легкий температурный шок, ТТШ – тяжелый температурный шок; *n* – число новых позиций МГЭ на выборку; Δn – среднее число транспозиций МГЭ на один сайт, на геном, за поколение.

Таблица 2

Скорости индуцированных транспозиций *mdg1* после теплового (ТШ) и холодного (ХШ) воздействия на разные стадии сперматогенеза у самцов *D. melanogaster*

| Скорости индукции | Митотические деления | Рост сперматоцитов | Мейотические деления | Спермиогенез | |
|---------------------|-----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| ТШ | Δn | 1,4 | 1,25 | 2,4 | 1,8 |
| | λ | $1,0 \cdot 10^{-1}$ | $8,9 \cdot 10^{-2}$ | $1,7 \cdot 10^{-1}$ | $1,3 \cdot 10^{-1}$ |
| ХШ | Δn | 1,3 | 1,6 | 2,3 | 1,4 |
| | λ | $8,9 \cdot 10^{-2}$ | $1,1 \cdot 10^{-1}$ | $1,6 \cdot 10^{-1}$ | $9,6 \cdot 10^{-2}$ |
| Контроль, λ | $< 7,8 \cdot 10^{-3}$ | | | | |

Примечание. Δn – среднее число транспозиций на сайт, на спермий, за поколение; λ – скорость индуцированных транс-позиций, на сайт, на геном, за поколение.

действием температурным шоком, увеличивая скорость транспозиций до $6,9 \cdot 10^{-2}$ на сайт, на геном, за поколение. Этот факт позволяет предположить, что в основе индукции транспозиций парами этанола лежат механизмы, сходные по своему действию с таковыми и при температурных воздействиях. Вероятнее всего, у дрозофилы существует общая система генерализованного ответа на стрессовые воздействия. Таким образом, этанол наряду с другими внешними стрессовыми факторами является достаточно сильным индуктором транспозиций МГЭ у дрозофилы.

γ-облучение является мощным мутагеном, вносящим существенный вклад в индуцированную изменчивость генов. В данном случае использованы различные дозы облучения самцов дрозофилы. Показано, что уровень индукции транспозиций γ-облучением является величиной, сопоставимой с индукцией того же МГЭ жестким температурным шоком. Кроме того, показано, что скорость индуцированных транспозиций нарастает с увеличением дозы облучения с $0,4 \cdot 10^{-2}$ при дозе 3 Гр до $1,9 \cdot 10^{-2}$ при дозе 30 Гр на сайт, на геном, за поколение, что на порядок величин выше спонтанного уровня транспозиций. Не исключено, что это аргумент в пользу представления о том, что главный механизм мутагенного действия γ-облучения тоже связан с инсерциями копий МГЭ. Однако индукция γ-облучением, вероятнее всего, не имеет отношения к системе ответа генома на температурный шок, а скорее, зависит от возникновения двуцепочечных разрывов ДНК и их «залечивания» копиями ретротранспозонов путем повышения точной репарации (Ивашенко и др., 1990; Dusaу *et al.*, 2000).

Изогенизация представляет собой многоэтапную процедуру: скрещивание особей из балансерной линии с особями из исходной гетерогенной линии *ri^C* (аутбридинг); беккроссирование; отбор особей, содержащих удвоенный гаплоидный набор хромосом от особи из гетерогенной линии *ri^C* (инбридинг). При пересчете среднего числа событий на изогенную линию получаем, что по 18 изогенным линиям в сумме по всем этапам изогенизации среднее число событий равно 7,7. Причем для аутбридинга это значение равно 3,8, для инбридинга 2,4. Кроме того, обнаружен весьма важный факт:

балансерные хромосомы *M5;CyPm;D Sb*, считающиеся классическими облигатными запирающими кроссинговера, таковыми не являются. И на другой генетической системе это явление было обнаружено также Д.П. Фурман и Т.А. Бухариной (1996а, б). Среднее число событий, приходящихся на двойной рекомбинационный перенос, равно 1,5. Иначе говоря, рекомбинационный перенос из балансерной линии (что не является процессом индукции транспозиций) составляет 20 % событий. Аутбридинг и инбридинг в сумме составляют 80 % индуцированных транспозиций МГЭ. Отметим, что примерно такие же события наблюдались и при анализе по 10 изогенным линиям: скорость транспозиций составляет $3,1 \cdot 10^{-1}$. При анализе 18 изогенных линий это значение практически не изменилось и составило $3,8 \cdot 10^{-1}$ на сайт, на геном, за поколение.

Таким образом, феномен индукции транспозиций в ходе изогенизации тоже можно считать доказанным. Факторами, вызывающими транспозиции, прежде всего, следует считать аутбридинг, а затем инбридинг. Эти факторы, как и дисгенное скрещивание типа ($\text{♀M} \times \text{♂P}$), являются внутренними физиологическими факторами. Двойной рекомбинационный перенос выступает в роли сопутствующего фактора при изогенизации. Сходные результаты были получены по транспозициям МГЭ *hobo* в генеративных клетках (Кайданов и др., 1994), а также по транспозициям этого элемента в соматических клетках дрозофилы (Коваленко и др., 2006).

Следует отметить, что индукция транспозиций МГЭ сопровождалась возникновением новой генетической изменчивости по полигенам, контролирующим экспрессию олигогенной мутации *radius incompletus*. Доказательством того, что транспозиции МГЭ являются источником дополнительного генетического разнообразия, служит успешный «генетический тренд» при разнонаправленной селекции по количественному признаку в изогенных линиях, предварительно подвергнутых шоковой температурной обработке (Ратнер, Васильева, 1992а; Васильева и др., 1998, 2007; Васильева, 2005; Антоненко, Васильева, 2006). Селекция по количественному признаку была эффективной и после обработки самцов дрозофилы γ-облучением, и это неудивительно, поскольку

γ-облучение всегда считалось жестким мутагеном. Однако выявление сопровождающих γ-облучение транспозиций МГЭ может означать, что мутагенность γ-облучения частично или полностью реализуется через индукцию транспозиций МГЭ. Оказалось также, что и пары этанола являются активатором транспозиций МГЭ, и обнаружение этого факта является важным аргументом при объяснении причин возникновения различных патологий у детей родителей, злоупотребляющих алкоголем.

Температурные шоковые воздействия всегда считались немутагенными. Однако наличие эффективного отклика количественного признака на отбор в изогенной линии после тяжелого температурного шока (ТТШ) говорит о том, что ТТШ индуцирует генетическую изменчивость полигенов (Nuzhdin, Mackay, 1995; Васильева и др., 1998; Mackay, 2002). В данном случае отклик на отбор в гомозиготной изогенной линии можно объяснить только индукцией транспозиций МГЭ, которые изменяют активность полигенов, контролирующей селектуемый признак. Модифицирующее влияние МГЭ на полигены, т. е. изменение их экспрессии, может быть причиной отклика на отбор количественного признака в изогенных линиях. В принципе аллели полигенов могут вносить положительный и отрицательный вклад в признак или быть нейтральными, т. е. по-разному откликаться на отбор в каждом из направлений селекции. Модифицирующий эффект должен проявляться только у отбираемых аллелей полигенов, т. е. по результату эквивалентно специфической локализации тех МГЭ, которые усиливают действие полигенов в направлении вектора отбора количественного признака.

Сравнительный анализ спектров транспозиций различными факторами – легким и тяжелым температурным шоком, γ-облучением, парами этанола и изогенизацией – выявляет их существенное сходство. В большинстве случаев оно касается участия сайтов, в которые чаще всего индуцируются МГЭ. Этот факт может означать, что существует некий молекулярный механизм, общий для разных индуцирующих факторов, который обеспечивает выбор сайтов-мишеней, доступных для внедрения МГЭ инсерций. В нашей системе исследований все транспозиции происходят в герминальных клетках самцов,

т. е. определяющую роль должны играть особенности упаковки хроматина в этих клетках. Так же важна структура самих сайтов-мишеней, где фермент интегразы (транспозазы) локализует инсерции (Sandmeyer *et al.*, 1990; Van Luenen, Plasterk, 1994). Согласно молекулярно-генетическим данным сайты-мишени ретротранспозонов содержат ТА-богатые последовательности, узнаваемые интегразой (Craigie, 1990; Sandmeyer *et al.*, 1990; Van Luenen, Plasterk, 1994). Так, у дрозофилы МГЭ 297 имеет сайт-мишень ТАТАТА, 17.6-АТАТ, *gypsy*-ТАСА, а МГЭ Tc1 нематоды имеет консенсус GAG/ТА/GTAT/CG/СТ. Р-элемент дрозофилы имеет консенсус сайтов-мишеней GGCCAGAC, узнаваемый транспозазой. Предполагается, что сайты-мишени, в которых чаще, чем в других сайтах, происходит встраивание МГЭ, имеют повышенную специфичность к белковому комплексу интеграции (Craigie, 1990).

Другая сторона проблемы – существенное возрастание скорости транспозиций при индукции. Это свойство, вероятнее всего, определяется регуляторной природой самих МГЭ, их способностью к мобилизации и репликации под воздействием внешних и физиологических факторов, воспринимаемых как сигналы. В центре внимания оказывается молекулярная система ответа генома на тепловой шок (Ratner, Vasilyeva, 1989). Предполагается, что эта система ответственна за индукцию транспозиций. Для этого необходимо, чтобы последовательности ДНК МГЭ содержали сайты рецепции регуляторного белка теплового шока (HSF). Такие сайты присутствуют в регуляторных зонах всех индуцируемых геномов системы теплового шока (Morimoto, 1993). Действительно, компьютерный поиск мотивов HSE и других сайтов ответа на тепловой шок в последовательностях ДНК ретротранспозона *Dm412* и у других мобильных элементов показал, что такие мотивы там есть, и они способны обеспечить подчинение инициации транскрипции МГЭ сигналу теплового шока (Ратнер, Амикишиев, 1996).

Однако система теплового шока не является узкоспециализированной. Известно, что это генерализованная система толерантности клеток к внешним и физиологическим стрессам (Lindquist, Craig, 1988). Она чувствительна к самым разнообразным стрессовым факторам:

ядам, детергентам, ионам тяжелых металлов, химическим веществам, этанолу, гипоксии, появлению дефектных белков при вирусном заражении и др. (McDonald, 1989; Ратнер, Васильева, 1992б; Lindquist, Craig, 1998;). Поэтому следует ожидать, что индукция транспозиций может быть вызвана многими другими стрессовыми факторами. Действительно, П.Г. Георгиевым с соавторами (Набирочкин и др., 1989, Georgiev *et al.*, 1990; Георгиев, 1991) было показано, что инсерционный мутагенез в отдельных майор-генах дрозофилы может быть индуцирован действием теплового шока, митомицином С и заражением онковирусами.

Нсп-белки в клетке выполняют роль «шаперонов», т. е. способствуют правильному сворачиванию и стабилизации других глобулярных белков (Craig, 1993; Hendrick, Hartl, 1993; Morimoto, 1993), в том числе устраняют дестабилизирующие последствия различных стрессовых воздействий на структуру белков. Субстратами для Нсп-белков являются белки с нарушенной конформацией, а сигналом синтеза Нсп-белков – их высокая концентрация в клетке (Ananthan *et al.*, 1986). Фактически система теплового шока откликается на любой стрессовый фактор, увеличивающий концентрацию глобулярных белков в клетке. Эта же гипотеза способна объяснить роль инбридинга, аутбридинга и изогенизации. Глубокий инбридинг должен сопровождаться гомозиготизацией и резким ростом концентрации всяких дефектных белков и в этой связи – резким падением жизнеспособности и включением системы ответа на температурный шок. Изогенизация фактически представляет собой комбинацию аутбридинга (скрещивание с балансерной линией) и последующего инбридинга, завершающегося в течение 2–3 поколений. В этих условиях концентрация дефектных белков резко возрастает. Если эти белки несовместимы с жизнеспособностью, то наступает инбредное вырождение. Такое явление действительно наблюдается при изогенизации.

Открытие стрессовой индукции транспозиций МГЭ дает новые возможности для понимания процесса эволюции популяций. Критические стрессовые условия существования популяций часто сопряжены с прохождением через стадию «бутылочного горлышка», которое может быть связано либо с массовым

вымиранием особей, либо с заселением новых экологических ниш по принципу «основателя». Стрессовые условия могут пережить те особи, у которых произошли генетические изменения в системе приспособленности, вызванные вспышкой индуцированных транспозиций МГЭ.

Таким образом, отклик генома на стрессовые воздействия, по-видимому, носит повсеместный характер. В таком случае систему разнообразных паттернов МГЭ можно рассматривать как универсальную геномную систему «мягкой» модификации полигенного контроля любых количественных признаков и в том числе признаков приспособленности (Maskau, 2002). Эта система столь же реальна и универсальна, как система SOS-репарации, гормонального контроля и др. Следовательно, МГЭ непосредственно участвуют в экспрессии и изменчивости признаков, селекции и эволюции. Наличие таких систем позволяет популяциям выживать в резко измененных условиях среды, а также они важны в селекции популяций и эволюции видов.

Работа поддержана грантом Президиума РАН «Динамика генофондов и биоразнообразие» № 11.4.1, грантом РФФИ № 06-04-48116.

Литература

- Аникеева Н.В., Забанов С.А., Васильева Л.А., Ратнер В.А. Влияние теплового шока на транспозиции МГЭ *Dm412* в трех изогенных линиях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1994. Т. 30. № 2. С. 212–217.
- Антоненко О.В., Васильева Л.А. Изменение рисунка локализации МГЭ *mdg1* и *mdg2* при разнонаправленной селекции по количественному признаку в изогенной линии *Drosophila melanogaster* // Докл. РАН. 2006. Т. 406. № 2. С. 129–133.
- Васильева Л.А. Изменение системы жилкования крыла *Drosophila melanogaster* под воздействием температурного шока и селекции // Журн. общ. биологии. 2005. Т. 66. № 1. С. 68–74.
- Васильева Л.А., Антоненко О.В., Выхристюк О.В. Отклик геномного рисунка МГЭ412 на отбор по количественному признаку у *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биологии. 2007. Т. 68. № 5. С. 341–349.
- Васильева Л.А., Юнакович Н., Ратнер В.А., Забанов С.А. Анализ изменений локализации МГЭ дрозофилы после селекции и температурного воздействия методом блот-гибридизации по Саузерну // Генетика. 1995. Т. 31. № 3. С. 333–341.

- Васильева Л.А., Бубенщикова Е.В., Захаренко Л.П., Ратнер В.А. Популяционная динамика отклика геномного паттерна МГЭ *Dm412* дрозофилы на отбор по количественному признаку // Генетика. 1998. Т. 34. № 7. С. 929–940.
- Георгиев П.Г. Роль мобильных генетических элементов в мутагенезе, индуцированном химическими и физиологическими агентами: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1991. 16 с.
- Герасимова Т.И. Транспозиционные взрывы, транспозиционная память и их возможное эволюционное значение // Молекулярные механизмы генетических процессов / Ред. А.А. Созинов, Н.Г. Шуппе. М.: Наука, 1990. С. 99–109.
- Забанов С.А., Васильева Л.А., Ратнер В.А. Множественная индукция транспозиций МГЭ *B104* тяжелым тепловым шоком у дрозофилы // Генетика. 1994. Т. 30. № 2. С. 218–224.
- Забанов С.А., Васильева Л.А., Ратнер В.А. Индукция транспозиций МГЭ *Dm412* γ -облучением в изогенной линии *Drosophila melanogaster* // Генетика. 1995. Т. 31. № 6. С. 798–803.
- Иващенко Н.И., Гришаева Т.М., Богданов Ю.Ф. Влияние гамма-облучения на гониальные клетки *Drosophila melanogaster* в разных условиях гибридного дисгенеза // Генетика. 1990. Т. 26. № 11. С. 1969–1979.
- Кайданов Л.З., Мыльников С.В., Иовлева О.В., Галкин А.П. Направленный характер генетических изменений при длительном отборе линий *Drosophila melanogaster* по адаптивно важным признакам // Генетика. 1994. Т. 30. № 8. С. 1085–1096.
- Коваленко Л.В., Захаренко Л.П., Волошина М.А. и др. Поведение транспозонов *hobo* и *P* в нестабильной линии *Drosophila melanogaster* и ее производных после скрещиваний с лабораторной линией // Генетика. 2006. Т. 42. № 2. С. 748–756.
- Набирочкин С.В., Георгиева С.Г., Георгиев П.Г. и др. Инсерционные мутации, индуцированные в ген *yellow* *Drosophila melanogaster* микроинъекцией ДНК онкогенных вирусов в полярную плазму ранних эмбрионов // Докл. АН СССР. 1989. Т. 306. С. 1473–1475.
- Ратнер В.А., Амикишиев В.Г. Анализ мотивов функциональных сайтов МДГ-2 в обеспечении его возможных молекулярных функций // Генетика. 1996. Т. 32. № 7. С. 902–913.
- Ратнер В.А., Васильева Л.А. Мобильные генетические элементы (МГЭ) и количественные признаки у дрозофилы: факты и гипотезы // Генетика. 1992а. Т. 28. № 11. С. 15–27.
- Ратнер В.А., Васильева Л.А. Роль мобильных генетических элементов (МГЭ) в микроэволюции // Генетика. 1992б. Т. 28. № 12. С. 5–17.
- Ратнер В.А., Васильева Л.А. Индукция транспозиций и эксцизий мобильных генетических элементов у дрозофилы в процессе изогенизации // Генетика. 1996. Т. 32. № 7. С. 933–944.
- Фурман Д.П., Бухарина Т.А. Мобильные элементы генома дрозофилы как маркеры кроссинговера при изогенизирующих скрещиваниях с балансерной линией // Генетика. 1996а. Т. 32. № 9. С. 1291–1294.
- Фурман Д.П., Бухарина Т.А. Увеличение частоты перемещений *copia*-подобных элементов в процессе получения изогенных линий // Докл. РАН. 1996б. Т. 348. С. 711–715.
- Ananthan J., Goldberg A.L., Voelmy R. Abnormal proteins serve as eukaryotic stress signals and trigger activation of heat shock genes // Science. 1986. V. 232. P. 522–524.
- Arnault C., Biemont C. Heat shock do not mobilize mobile element in genomes of *Drosophila melanogaster* // J. Mol. Evol. 1989. V. 28. P. 388–390.
- Arnault C., Dufournel I. Genome and stress: reactions against aggressions, behavior of transposable elements // Genetica (Ned.). 1994. V. 93. P. 149–160.
- Arnault C., Heizmann A., Loevenbrck C., Biemont C. Environmental stress and mobilization of transposable elements in inbred lines of *Drosophila melanogaster* // Mutant. Res. 1991. V. 248. P. 51–60.
- Biemont C. Population genetics of transposable elements: a *Drosophila* point of view // Transposable Elements and Evolution / Eds J.F. McDonald. Dordrecht (Ned.): Kluwer Acad. Publs, 1993. P. 74–91.
- Biemont C., Aouar A., Arnault C. Genome reshuffling of the copia element in an inbred line of *Drosophila melanogaster* // Nature. 1987. V. 329. P. 742–744.
- Biemont C., Arnault C., Heizmann A., Ronssrray S. Massive changes in genomic location of *P* elements in an inbred line of *Drosophila melanogaster* // Naturwissenschaften. 1990. Bd. 77. S. 485–488.
- Biemont C., Vieira C. What transposable elements tell us about genome organization and evolution: the case of *Drosophila* // Cytogenet. Genome Res. 2005. V. 110. P. 25–34.
- Blackman R.K., Gelbart W.M. The transposable element *hobo* of *Drosophila melanogaster* // Mobile DNA / Eds D.E. Berg, M.A. Howe. Washington: Amer. Soc. Microbiol., 1989. P. 523–529.
- Bucheton A. I transposable elements and I-R hybrid disgenesis in *Drosophila* // Trends in Genet. 1990. V. 6. № 1. P. 16–21.
- Craig E.A. Chaperons: helpers along the pathways to protein folding // Science. 1993. V. 260. P. 1902–1903.
- Craigie R. Hotspots and warm spots: integration of retroelements // Trends in Genetics. 1990. V. 6. № 6. P. 187–190.
- Di Franco C., Pisano C., Fourcade-Peronnet F. et al. Evidence for *de novo* rearrangements of *Drosophila*

- transposable* elements induced by the passage to the cell culture // *Genetica* (Ned). 1992. V. 87. P. 65–72.
- Di Franco C., Galuppi D., Junakovic N. Genomic distribution of transposable elements among individuals of an inbred *Drosophila* lines // *Transposable Elements and Evolution* / Eds J.F. McDonald. Dordrecht (Ned.): Kluwer Acad. Pabls., 1993. P. 95–105.
- Ducau J., Bregliano J.-C., de La Roche Saint-Andre C. Gamma-irradiation stimulates homology-directed DNA double-strand break repair in *Drosophila* embryo // *Mutat. Res.* 2000. V. 460. № 1. P. 69–80.
- Engels W.R. *P*-elements in *Drosophila melanogaster* // *Mobile DNA* / Eds D.E. Berg, M.M. Howe. Washington: Amer. Soc. Microbiol., 1989. P. 437–484.
- Finnegan D.J. *Transposable Elements // The Genome of Drosophila melanogaster* / Eds D.L. Lindsley, G. Zimm. San Diego: Acad. Press, 1992. P. 1096–1107.
- Georgiev P.G., Korochkina S.F., Georgieva S.G., Gerasimova T.J. Mitomycin C induces genomic rearrangements involving transposable elements in *Drosophila melanogaster* // *Mol. Gen. Genet.* 1990. V. 220. P. 229–233.
- Guerreiro M.P.G., Biemont C. Changes in the chromosomal insertion pattern of the *copia* element during the process of making chromosomes homozygous in *Drosophila melanogaster* // *Mol. Gen. Genet.* 1995. V. 246. P. 206–211.
- Harada K., Yukushiro K., Mukai T. Transposition rates of mobile genetic elements in *Drosophila melanogaster* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1990. V. 87. P. 3248–3252.
- Hendrick J.P., Hartl F.-U. Molecular chaperon functions of heat shock proteins // *Annu. Rev. Biochem.* 1993. V. 62. P. 349–384.
- Junakovic N., Di Franco C., Barsanti P., Palumbo G. Transpositions of *copia*-like elements can be induced by heat shock // *J. Mol. Evol.* 1986. V. 24. P. 89–93.
- Kaidanov L.Z., Bolshakov V.N., Tzzygvintzev P.N., Gvozdev V.A. The sources of genetic variability in highly inbred long-term selected strains of *Drosophila melanogaster* // *Genetica* (Ned.). 1991. V. 85. P. 73–78.
- Lindquist S., Craig E.A. The heat-shock proteins // *Annu. Rev. Genet.* 1988. V. 22. P. 631–677.
- McDonald J.F. The potential evolutionary significance of retroviral-like transposable elements in peripheral populations // *Evolutionary Biology of Transient Unstable Populations* / Ed. A. Fontdevila. Berlin e.a.: Springer-Verlag, 1989. P. 190–205.
- Mackay T.F.C. The nature of quantitative genetic variation for *Drosophila* longevity // *Mech. Ageing Dev.* 2002. V. 123. P. 95–104.
- Mobile DNA II // Eds N.L. Craig, R. Craigie, M. Gellert, A.M. Lambowitz. Washington: Amer. Soc. Microbiol., 2002. 1254 p.
- Morimoto R.T. Cells in stress: transcriptional activation of heat shock genes // *Science.* 1993. V. 259. P. 1409–1410.
- Nuzhdin S.V., Mackay T.F.C. The genomic rate of transposable element movement in *Drosophila melanogaster* // *Mol. Biol. Evol.* 1995. V. 21. P. 180–181.
- Pasyukova E.G., Belyaeva E.Sp., Ilyinskaya L.E., Gvozdev V.A. Outcross-dependent transpositions of *copia*-like mobile genetic elements in chromosomes of an inbred *Drosophila melanogaster* stock // *Mol. Gen. Genet.* 1988. V. 212. P. 281–286.
- Ratner V.A., Vasilyeva L.A. Mobile genetic elements and quantitative characters in *Drosophila*: fast heritable changes under temperature treatment // *Evolutionary Biology of Transient Unstable Populations* / Ed. A. Fontdevila. Berlin e.a.: Springer-Verlag, 1989. P. 165–189.
- Ratner V.A., Zabanov S.A., Kolesnikova O.V., Vasilyeva L.A. Induction of mobile genetic element *Dm412* transpositions in *Drosophila* genome by heat-shock treatment // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 1992. V. 89. P. 5650–5654.
- Sandmeyer S.B., Hansen L.J., Chalker D.L. Integration specificity of retrotransposons and retroviruses // *Annu. Rev. Genet.* 1990. V. 24. P. 491–518.
- Strand D.J., McDonald J.F. *Copia* is transcriptionally responsive to environmental stress // *Nucl. Acids Res.* 1985. V. 13. P. 4401–4410.
- Van Luenen H.G.A.M., Plasterk R.H.A. Target site choice of related transposable elements *Tc1* and *Tc3* of *Coenorhabditis elegans* // *Nucl. Acids. Res.* 1994. V. 22. P. 265–297.
- Vasilyeva L.A., Zabanov S.A., Ratner V.A. *et al.* Expression of the quantitative character *radius incompletus*: temperature effects, and localization of mobile genetic element // *Sel. Evol.* 1988. V. 20. № 2. P. 159–180.

**INDUCTION OF MOBILE GENETIC ELEMENTS TRANSPOSITIONS
IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* GENOME
BY DIFFERENT STRESS FACTORS**

L.A. Vasilyeva, O.V. Antonenko, O.V. Vikhristyuk, I.K. Zakharov

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

Summary

The induction rates of the mobile genetic elements (TE) on the isogenic lines of *Drosophila melanogaster* after the male treatment by stress factors: temperature shock (TS), hard temperature shock (HTS), ethanol vapor, γ -irradiation have been analyzed. Besides, the process of isogenation as a TE transposition activating factor has been investigated. It was shown that the stress is able to increase the TE transposition rate by 1–2 orders of magnitude in comparison with the spontaneous induction level. Thus, our maximum experimental estimation of the spontaneous induction rate of transpositions is $3,8 \cdot 10^{-4}$ – $1,8 \cdot 10^{-3}$, whereas the shock temperature stress increases the induction rate of transpositions up to $1,1 \cdot 10^{-1}$ in site, per genome, for generation. The ethanol vapor (1,5–3,0 min) increases the rate of induction up to $6,9 \cdot 10^{-2}$, γ -irradiation – up to $1,9 \cdot 10^{-2}$. However, the isogenation process proved to be the most powerful ($\lambda = 3,1 \cdot 10^{-1}$ – $3,8 \cdot 10^{-1}$) in site, per genome, for generation inductor for transpositions. Thus it has been found experimentally that any one of the stress factors being analyzed is the inductor for transpositions of mobile genetic elements. The increase of induction rates of TE transpositions under stress factors provides the creation of additional genetic variety in the lines (populations) that can be important for the population surviving under the new ecological conditions and for selection and evolution as well.