

ТЕМПИ СПОНТАННОГО МУТАЦІЙНОГО ПРОЦЕСУ В ПРИРОДНІЙ ПОПУЛЯЦІЇ *DROSOPHILA MELANOGASTER* УКРАЇНИ

А. Лаврінєнко*, Є. Городецька, Л. Крячок, І. Козерецька

Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
ННЦ «Інститут біології»
вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна
e-mail: laurus.yalta@gmail.com

Досліджено частоти спонтанних мутацій у особин *Drosophila melanogaster* у локусі *sn*, який міститься у 3-й хромосомі. З цією метою було проаналізовано 15 050 самців і самок, представників природної популяції *D. melanogaster* м. Варви. Було встановлено відносно велику частоту спонтанних мутацій, причиною чого, ймовірно, була наявна висока частота цих подій у представників досліджуваної природної популяції, оскільки зареєстрована нами частота не є нижчою за ті, які були описані у літературі раніше.

Ключові слова: природні популяції, *D. melanogaster*, спонтанні мутації.

Мутаційний процес є основним джерелом спадкової мінливості, одним із формо-творчих процесів еволюції та важливим параметром, без якого не можна охарактеризувати життя [10]. Розуміння закономірностей мутаційного процесу як основного джерела спадкової мінливості потребує дослідження окремих його характеристик, а саме механізмів виникнення мутацій, швидкості мутаційного процесу, міжклеточних, міжгенних і міжгеномних взаємодій, впливу умов існування на мутаційні процеси у популяціях. Темпи мутаційної мінливості мають велике еволюційне значення, їх вивчення займає центральне місце в дослідженнях генетики популяцій [2], проте закономірності цих процесів вивчені недостатньо.

Для точної оцінки частоти мутаційного процесу важливим є розуміння природи мутацій. Не знаючи природи мутацій, їх молекулярного спектра, неможливо зрозуміти їхнє значення. За останнє десятиліття лише кілька робіт зосереджено на спробах розуміння природи і молекулярної характеристики спонтанних мутацій у еукаріот [15, 16]. Сьогодні, для оцінки частоти і спектра мутацій для деяких модельних організмів, до яких належить і *D. melanogaster*, застосовують секвенування [7, 14]. Однак затратність згаданого методу все ще не дає змоги широко застосовувати його в генетиці популяцій.

Відомо, що дуплікації та делеції, як і зміна копійності певних послідовностей, є важливими джерелами генетичної мінливості [4, 5]. Також відомим є вплив таких явищ і на організм людини [11]. Незважаючи на значення структурних мутацій, на сьогодні відносно мало відомо про їх частоту і природу. Такі структурні варіації можуть формуватися шляхом неалельної гомологічної рекомбінації між послідовностями, які повторюються [6], а сама вона має велике значення для еволюції геному [14]. Метою дослідження було вивчити частоту спонтанних мутацій у нащадків природної популяції *D. melanogaster*.

Матеріали та дослідження

Місце збору дрозофіл. Наприкінці літнього сезону (вересень) була зібрана вибірка з природної популяції *D. melanogaster* м. Варви. Вибір локалітету дослідження обумовлений екологічною чистотою регіону, в якому розташовується місто. Завдяки високій щільності

популяції у місці збору, відлов особин проводили за допомогою ентомологічного сачка. Загалом, із досліджуваної природної популяції було закладено 103 ізосамкові лінії.

Умови лабораторного розведення. Дрозофіл у лабораторних умовах утримували на стандартному поживному середовищі (на 1 літр води 6 г агару, 15 г дріжджів, 50 г цукру, 55 г манної крупи) при температурі 25°C [13]. Самки з природної популяції були переведені в лабораторну культуру шляхом закладання ізосамкових ліній. Для цього кожен самку поміщали в окрему пробірку. В потомстві F1 самок із природної популяції відібрали віргінних самок, яких схрещували з особинами тестерної лінії *sn*¹ (три або чотири самці тестерної лінії на кожен самку F1 досліджуваної популяції). Аналіз нащадків F1 самок з природної популяції також дає змогу ідентифікувати рецесивні, зчеплені зі статтю мутації, які мають проявлятися у самців, нащадків такого схрещування. У свою чергу, віргінних самок тестерної лінії схрещували з самцями F1, нащадками самок, відібраних у природі. Оскільки процес, який вивчався, є імовірнісним, такі схрещування підлягали пасажуванню.

Нащадки особин, отримані в результаті схрещувань із тестерною лінією, були досліджені на наявність як видимих мутантних фенотипів, так і змін кольору очей і форми крил. Якщо серед нащадків вказаних схрещувань 50% особин (або лише самців) характеризуються мутантним фенотипом, то це свідчить про те, що відповідний алель притаманний досліджуваній природній популяції і не може бути віднесений до подій спонтанного мутаційного процесу. Мутантних особин за кольором очей, відібраних у F2 ізосамкових ліній, представники яких не демонстрували в потомстві від схрещування з тестерною лінією мутантних фенотипів із частотою 50%, вважали результатом спонтанних мутаційних подій [14].

Результати і їхнє обговорення

Серед 93 ізосамкових ліній, для яких були поставлені схрещування з тестерною лінією, ідентифіковано тільки 1 лінію, яка продемонструвала розщеплення 1:1, тобто 50% особин характеризувалися яскраво-червоними очима. Отже, алель гена *sn* притаманний представникам природної популяції м. Варви і трапляється в ній із частотою не менше ніж 0,54%. У першому поколінні 103 самок, представників природної популяції не було ідентифіковано випадків наявності 50% мутантних самців, що свідчить про відсутність у проаналізованих самок рецесивних, зчеплених зі статтю мутацій, а отже, їхня частота в популяції менша за 0,48%.

Щоб оцінити частоту спонтанних мутацій у локусі *sn*, який розташований у 3-й хромосомі, проаналізовано 15 050 самців і самок, нащадків представників природної популяції *D. melanogaster* м. Варви. У F2 отримано 1547 самців та 1841 самку, серед яких 1 самець і 5 самок були мутантними за геном *sn*, тобто частота спонтанних мутацій за локусом *sn* у самців і самок становила в цьому поколінні $6,4 \times 10^{-4}$ та 27×10^{-4} відповідно. У F3 з проаналізованих нами 1724 самців та 1895 самок не було ідентифіковано жодної мутантної особини за локусом *sn*. А у F4, де проаналізували 1754 самці та 1719 самок, частота мутацій за локусом *sn* для самців становила 22×10^{-4} , але у ході дослідження нами не було ідентифіковано жодної мутантної самки. Серед представників F5, де було проаналізовано 1284 самці та 1347 самок, ситуація була прямо протилежною: для самок частота становила $7,4 \times 10^{-4}$, а мутантних самців ідентифіковано не було (табл. 1).

Оцінка частоти спонтанного мутаційного процесу в природній популяції *D. melanogaster* м. Варва за локусом *sn*, розташованим у 3-й хромосомі, та генами X хромосоми, продемонструвала, що цей показник є досить високим за локусом *sn*, порівняно з даними, наведеними в літературі. Так, у роботі Yang et al. цей показник становив $1,2 \times 10^{-8}$, а у роботі Watanabe et al. $1,16 \times 10^{-6}$, що на чотири та два порядки відповідно менше

отриманих нами величин [10, 14, 16]. Відносно велика частота спонтанних мутацій, зареєстрована нами у представників *D. melanogaster* м. Варви, ймовірно, спричинена порівняно невеликою вибіркою, або ж частота мутацій у представників природної популяції є справді високою в силу різних причин (активності мобільних генетичних елементів, наявності певних алелів мутаторних генів та ін.) і точно не нижчою за ті, що були описані раніше [1, 3, 10, 14, 16].

Таблиця 1

Динаміка мутаційного процесу у представників природної популяції
D. melanogaster України

Покоління	Локус	Самці			Самки			Загальна кількість проаналізованих хромосом
		Кількість проаналізованих хромосом	Кількість спонтанних мутацій	Частота мутацій	Кількість проаналізованих хромосом	Кількість спонтанних мутацій	Частота мутацій	
F2	<i>cn</i>	1547	1	$6,4 \times 10^{-4}$	1841	5	27×10^{-4}	3388
F3	<i>cn</i>	1724	0	–	1895	0	–	3619
F4	<i>cn</i>	1754	4	22×10^{-4}	1719	0	–	3473
F5	<i>cn</i>	1284	0	–	1347	1	$7,4 \times 10^{-4}$	2631

Останнім часом інформація з приводу молекулярної природи мутацій стає дедалі більш суперечливою. Наприклад, у дослідженнях Mukai et al. та Harada et al. [9, 12] було показано, що молекулярною причиною більшості мутацій є аберації та мобільні елементи. У дослідженнях Yamaguchi et al. 5 із 6 ідентифікованих мутацій мали інерційну природу [15], а серед 11 описаних мутацій тільки одна спричинена мобільним елементом [14]. З'ясування молекулярної природи отриманих нами мутацій, потребує подальших досліджень.

Також, на відміну від результатів, отриманих Watanabe et al. [14], нами продемонстровано різницю у частоті мутацій залежно від статі, що є характерним для деяких ссавців і людини [8]. Причиною такої різниці у показниках частоти мутацій за локусом *cn* між самками та самцями може бути кластерність мутаційних подій у випадку самок або ж розмір вибірки, який міг би вплинути на отримані нами результати.

Отже, нами виявлено відносно високу частоту спонтанних мутацій і різницю частоти мутування залежно від статі у нащадків природної популяції *D. melanogaster* м. Варви.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ратнер В. А., Васильєва Л. А. Мобильные генетические элементы (МГЭ) и эволюция геномов // Современные проблемы теории Эволюции. М.: Наука, 1993. С. 43–59.
2. Baer C. F., Miyamoto M. M., Denver D. R. Mutation rate variation in multicellular eukaryotes: causes and consequences // Nat. Rev. Genet. 2007. P. 619–631.
3. Barrick J. E., Dong Su Yu, Sung Ho Yoon et al. Genome evolution and adaptation in a long-term experiment with *Escherichia coli* // Nature. 2009. Vol. 461. P. 1243–1247.
4. Dopman E. B., Hartl D. L. A portrait of copy-number polymorphism in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2007. Vol. 104. P. 19920–19925.
5. Emerson J. J., Cardoso-Moreira M., Borevitz J. O., Long M. Natural selection shapes genome-wide patterns of copy-number polymorphism in *Drosophila melanogaster* // Sci. 2008. Vol. 320. P. 1629–1631.
6. Goldberg M. L., Sheen J. Y., Gehring W. J., Green M. M. Unequal crossing-over associated with asymmetrical synapsis between nomadic elements in the *Drosophila melanogaster* genome // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1983. Vol. 80. P. 5017–5021.

7. Haag-Liautard C., Dorris M., Maside X. Direct estimation of per nucleotide and genomic deleterious mutation rates in *Drosophila* // Nature. 2007. Vol. 445. P. 82–85.
8. Haldane J. B. The mutation rate of the gene for haemophilia, and its segregation ratios in males and females // Ann. Eugen. 1947. Vol. 13. P. 262–271.
9. Harada K., Yukuhiroand K., Mukai T. Transposition rates of movable genetic elements in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. Vol. 87. P. 3248–3252.
10. Kondrashov F. A., Kondrashov A. S. Measurements of spontaneous rates of mutations in the recent past and the near future // Phil. Trans. R. Soc. B. 2010. Vol. 365. P. 1169–1176.
11. Lupski J. R. Genomic disorders: structural features of the genome can lead to DNA rearrangements and human disease traits // Trends Genet. 1998. Vol. 14. P. 417–422.
12. Mukai T., Cockerham C. C. Spontaneous mutation rates at enzyme loci in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1977. Vol. 74. P. 2514–2517.
13. Roberts D. B. *Drosophila: a practical approach* // Oxford: Oxford University Press. 1986. P. 295.
14. Watanabe Y., Takahashi A., Itoh M. Molecular spectrum of spontaneous *de Novo* mutations in male and female germline cells of *Drosophila melanogaster* // Genetics. 2009. Vol. 181. P. 1035–1043.
15. Yamaguchi Y., Takano T., Yamazaki T., Harada K. Molecular analysis of Gpdh null mutations that arose in mutation accumulation experiments in *Drosophila melanogaster* // Heredity. 1994. Vol. 73. P. 397–404.
16. Yang H., Tanikawa A., Kondrashov A. S. Molecular nature of 11 spontaneous *de Novo* mutations in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 2001. Vol. 157. P. 1285–1292.

Стаття: надійшла до редакції 24.01.14

доопрацьована 21.02.14

прийнята до друку 12.06.14

RATES OF SPONTANEOUS MUTATION PROCESSES IN NATURAL POPULATION OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* FROM UKRAINE

A. Lavrinienko*, E. Gorodetska, L. Kriachok, I. Kozeretska

*Kyiv National Taras Shevchenko University, ESC «Institute of Biology»
64/13, Volodymyrska St., Kyiv 01601, Ukraine
e-mail: laurus.yalta @ gmail.com*

In this paper we have studied the frequency of spontaneous mutations in loci *cn*, which is located in the 3rd chromosome. To this end, we analyzed 15050 male and female representatives of natural population of *D. melanogaster* from Varva town, Ukraine. We registered a relatively high frequency of spontaneous mutations; its cause may lay in really high frequency of these events in representatives of natural population of Varva, whereas the frequency is not exactly lower than the frequencies which were described in the literature before.

Keywords: natural populations, *D. melanogaster*, spontaneous mutations.

ТЕМПЫ СПОНТАННОГО МУТАЦИОННОГО ПРОЦЕССА В ПРИРОДНОЙ

ПОПУЛЯЦІЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* УКРАЇНИ**А. Лавриненко*, Е. Городецкая, Л. Крячок, И. Козерецкая**

*Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,
ННЦ «Институт биологии»
ул. Владимирская, 64/13, Киев 01601, Украина
e-mail: laurus.yalta@gmail.com*

Исследованы частоты спонтанных мутаций у особей *Drosophila melanogaster* в локусе *cn*, который располагается в 3-й хромосоме. Для этого нами были проанализированы 15 050 самцов и самок, представителей природной популяции *D. melanogaster* г. Варвы. Была установлена относительно большая частота спонтанных мутаций, причиной чего, вероятно, является высокая частота этих событий у представителей исследуемой природной популяции, поскольку зарегистрированная нами частота не является ниже тех, которые были описаны в литературе ранее.

Ключевые слова: природные популяции, *D. melanogaster*, спонтанные мутации.