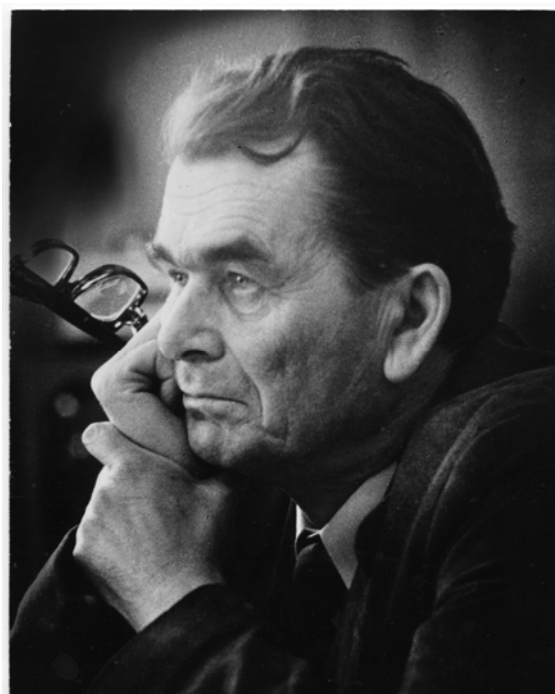


*Current Evolutionary  
Thinking in Biology,  
Medicine and Sociology*

**International Conference Dedicated to  
90 Anniversary of  
Prof. Dmitry K. Belyaev  
7-9 August 2007, Novosibirsk, Russia**



**ТЕЗИСЫ ДОКЛАДОВ**

---

К ВОПРОСУ О СООТНОШЕНИИ ОРГАНИЗМЕННЫХ И ГЕННЫХ ГЕНЕАЛОГИЙ,  
ВЫБОРЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ И ОПРЕДЕЛЕНИИ ВИДОВЫХ ГРАНИЦ

*Абрамсон Наталья Иосифовна, д.б.н., СПбГУ.*

Текст тезисов не представлен.

## РЕПРОДУКТИВНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ ИСЧЕЗАЮЩЕГО ВИДА – ЕВРОПЕЙСКОЙ НОРКИ И ЭМБРИОТЕХНОЛОГИИ ЕЕ СОХРАНЕНИЯ

Амстиславский С. Я.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

Проблема сохранения генофонда диких видов млекопитающих является в настоящее время весьма актуальной. В семействе куницеобразных (*Mustelidae*) есть несколько исчезающих видов. В частности, широко обсуждается проблема европейской норки (*Mustela lutreola*). В Европе и России создано несколько питомников, где европейская норка разводится в условиях неволи, предпринимались и предпринимаются попытки интродукции и реинтродукции европейской норки в природу. Однако наиболее эффективные программы сохранения генетических ресурсов млекопитающих включают в себя в качестве ключевого элемента создание криобанков зародышей и семени.

Целью данной работы было изучение преимплантационного развития у европейской норки, разработка модели трансплантации эмбрионов этого вида и экспериментальное изучение возможности криоконсервации эмбрионов куницеобразных.

Экспериментальным путем было установлено, что преимплантационное развитие европейской норки имеет длительность 12 дней и сходно с ранним развитием черного хорька. В частности, миграция зародышей из яйцеводов в матку, как у хорька, так и у норки происходит на 6-й день после спаривания. В силу сходства преимплантационного развития европейской норки и хорька представляется целесообразным использовать последнего в программах по сохранению европейской норки. Результаты изучения лютеогенеза в яичниках и развития зародышей Европейской норки с начала дробления до имплантации позволили сделать вывод о том, что диапауза у этого вида отсутствует.

Технологии вымывания, трансплантации и криоконсервации эмбрионов куницеобразных были отработаны нами на хорьках. Впервые было показано, что зародыши куницеобразных выживают после глубокого замораживания и криохранения и способны к дальнейшему развитию как *in vitro*, так и *in vivo* (Amstislavsky et al., 2000, 2006; Lindeberg et al., 2003). В ходе этих экспериментов было продемонстрировано, что такие известные криопротекторы, как ДМСО и глицерин не пригодны для замораживания эмбрионов куницеобразных, однако этиленгликоль пригоден для этих целей.

Попытки прямой трансплантации эмбрионов европейской норки хорькам не привели к рождению потомства. Для преодоления межвидового барьера было решено использовать в качестве самок-реципиентов гибридов первого поколения между хорьком и норкой (хонориков и нохориков). Трансплантация эмбрионов от европейской норки хонорикам или нохорикам приводит к рождению потомства в 50% случаев, а 56-70% полученных таким образом потомков выживает (Amstislavsky et al., 2004; Amstislavsky et al., 2006). Разработанная нами модель трансплантации эмбрионов межвидовым гибридам может быть использована для сохранения европейской норки. Принцип лежащий в основе этой модели может применяться и для сохранения других исчезающих видов млекопитающих.

Несмотря на то, что пакет репродуктивных технологий для сохранения биоразнообразия европейской норки находится пока еще на стадии доработки, уже сейчас некоторые этапы представляются нам вполне технологичными и результат хорошо воспроизводится в повторных экспериментах. В частности, эксперимент по трансплантации эмбрионов европейской норки хонорикам/нохорикам был проведен дважды (в 2002-м и 2004-м гг.) и в обоих случаях эффективность составила 50%.

В результате данной работы было впервые показано, что криоконсервация

эмбрионов применима по отношению к кунцеобразным и разработана модель трансплантации эмбрионов с учетом репродуктивной специфики Европейской норки.

## ПРОТЕИН-КОДИРУЮЩИЕ ИНТРОНЫ

Бабенко В.Н., Ромашенко А.Г.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

Сохранение интрона в зрелой мРНК является одной из разновидностей альтернативного сплайсинга (Croft et al., 2000; Sakabe, de Souza, 2006). При этом виде сплайсинга в зрелой мРНК сохраняется интрон, кодирующий относительно короткую, в среднем 60 аминокислот (Sakabe, de Souza, 2006) синфазную рамку считывания. Таким образом, два экзона и интрон сливаются в один экзон. Таких случаев альтернативного сплайсинга относительно немного, примерно 5% от всего числа генов человека по сравнению с 60% генов, имеющих альтернативные транскрипты. Если рамка сохраненного интрона или альтернативного экзона содержит стоп-кодон, то транскрипт разрушается с помощью специального механизма (Nonsense-mediated decay, NMD). При оставлении первого интрона данный механизм не срабатывает в силу специфики NMD процесса.

Мы проверили кодирующий потенциал первых интронов в генах с первым кодирующим экзоном. Факт экспрессии ДНК первых интронов устанавливался с помощью поиска гомологии в экспрессирующихся последовательностях. При этом мы придерживались следующих ограничений: последовательность интрона находилась в фазе с 3' концом первого экзона (т.е. рамка не нарушалась), и содержала рамку считывания не менее 30 аминокислот начиная с 5' конца интрона.

Результатом поиска гомологии явилась идентификация 2536 интронов, присутствующих в базе данных EST. Поиск в базе белков пептидов, потенциально кодируемых этими интронами, позволил обнаружить 544 аминокислотных последовательностей, гомологичных анализируемому участку.

Мы сравнили степень присутствия остальных интронов в экспрессирующихся последовательностях ДНК и белковых последовательностях. За исключением случаев полного включения интрона, аннотированного другими авторами и являющихся установленными фактами альтернативного сплайсинга (Sakabe, de Souza, 2006), мы нашли только 245 случаев частичного сохранения интрона в фазе, имеющего белковый аналог. Учитывая, что было просмотрено 6145 генов, содержащих в общем счете 71964 интрона, частота сохранения протеин - кодирующих интронов достоверно выше в выборке первых интронов ( $P < 1e-8$ ).

При сравнительном анализе найденных белок-кодирующих последовательностей человека с ортологичными последовательностями мыши и крысы, консервативность кодирующей части первого интрона была в среднем 70% для 90% выявленных генов по сравнению с 40% гомологии для остальных интронов. Относительная частота синонимичных замен оказалась равной 40% против 25%, обнаруженных для некодирующих участков гена. Анализ онтологии анализируемых генов не позволил достоверно выделить какие-либо группы предпочтения функциональной принадлежности генов с указанными свойствами первого интрона.

Croft L, Schandorff S, Clark F, Burrage K, Arctander P, Mattick JS. ISIS, the intron information system, reveals the high frequency of alternative splicing in the human genome. *Nature Genetics* 2000, 24: 340-341.

Sakabe NJ, de Souza SJ. Sequence features responsible for intron retention in human. *BMC Genomics* 2007, 8:59.

## ОНТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ НАСЛЕДСТВЕННОСТЬ ПШЕНИЦЫ

Бабицкий А.Ф.

*Институт Прикладной Физики АН Республики Молдова, babandre@mail.ru*

<http://www.phys.asm.md/personalia/babitchi/>

Основу современной теории эволюции составляют два абсурдных постулата – ненаправленной мутационной изменчивости, вызванной ионизирующей радиацией внешней среды и направленным творческим отбором этих, мутантных форм, опять же, внешней средой. При этом активная роль в эволюционном процессе приписывается внешней среде, формирующей измененные формы и их отбирающей - она Творец. Роль биологической системы пассивная, это глина, из которой внешняя среда формирует виды. Процесс эволюции – это слишком сложный процесс и исторический результат жизнедеятельности не одного биологического вида, а всей биосферы в целом, что бы этих двух постулатов было достаточно для исчерпывающего его раскрытия. Биологическая система изначально возникла из неравновесной системы, ибо только неравновесная система способна к самоорганизации [10] и к активному поддержанию своего неравновесного состояния [9] за счет непрерывного притока энергии и извлечения упорядоченности из окружающей среды для организации собственной упорядоченности или притока отрицательной энтропии [11], что и является процессом жизнедеятельности. Принципиальным свойством этой системы является то, что свойство эволюционизировать является ее внутренним свойством и следствием организации ее внутренней структуры [9] при изменении во внешней среде. Поэтому эволюционный процесс, как ее результат, может основываться только на адаптивном приспособлении организмов к конкретным условиям внешней среды и передачи его последующим поколениям. Однако, до настоящего времени в академической литературе имеется значительный пробел в описании экспериментальных доказательств наследования приобретенных признаков биологическими видами. Традиционно это связано не с их отсутствием, а с энергичным их отторжением чиновниками от ортодоксальной генетики, поэтому эти исследования освещаются в специализированных журналах и прессе.

Среди них имеется, так называемый, вопрос об урожайных качествах (УК) семян. Со времен глубокой древности известно, что семена одного и того же генотипа, но выращенные в различных условиях их репродукции, при посеве в одинаковых условиях дают различные урожаи. Этот признак передается через семена и реализуется в одном поколении, а затем исчезает. По своей значимости исследование природы УК семян с 1934 г. было провозглашено проблемой государственной важности. Однако долгое время не удавалось выявить наиболее существенный фактор внешней среды, существенно изменяющий репродуктивную память, связанную с УК семян.

Наконец, после многолетних обширных опытов в полевых условиях на яровой твердой пшенице Харьковская 46 удалось получить достоверные результаты, что главным фактором внешней среды изменяющим репродуктивную память семян, является влажность почвы [1, 4-7]. Семена, репродуцированные при дефиците влаги, обладают пониженными УК. При этом, растения, выращенные из этих семян, более приспособлены к дефициту влаги и имеют более короткий период вегетации и пониженную продуктивность. Семена, репродуцированные при достаточном увлажнении имеют более продолжительный период вегетации и повышенную продуктивность, которая реализуется за счет повышенной озерненности колоса пшеницы [2]. При этом, сама репродуктивная память семян не связана ни с их крупностью, ни с содержанием белка, ни фосфора, ни ферментативной

активности, что свидетельствует, что это качество семян не связано с резервными питательными веществами и активностью ферментов, а связано с наследственным аппаратом [3]. Что является носителем этой наследственности пока не выяснено.

Полученные результаты позволяют разделить общую наследственность растений на постоянную филогенетическую наследственность, сформированную в процессе всей эволюции и временную наследственную, формируемую в течение одного цикла онтогенеза и названную нами онтогенетической наследственностью. Онтогенетическая наследственность отражает память растения о важнейшем условии его жизнедеятельности – наличии влаги, как необходимого условия самой жизни. При этом, эта память формируется в корневой системе и через стебель сигнальным белком передается в семена и там запоминается в геноме и передается следующему поколению. Таким образом, при дефиците влаги репродуцированные семена передают следующему поколению эту информацию для возврата от мезофитного высокопродуктивного к ксерофитному менее продуктивному состоянию. Для растения наличие влаги это важнейший показатель, который при прорастании семян тестируется в первую очередь, появляющимся первым из семени корешком, который дает сигнал зародышу о ее наличии и возможности продолжения развития растения. Для понимания процесса эволюции и продуктивности культурных растений важно выяснить механизм преобразования и закрепления онтогенетической наследственности в филогенетическую, поскольку окультуренные виды это омеозотичные ксерофиты.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Бабицкий А.Ф., Сечняк Л.К., Брединский А.А. 2004. Репродуктивная память семян пшеницы // *Fiziologia și biochimia plantelor de cultură (Aspecte Ecologice)*. Chișinău. P. 26 - 31.
2. Бабицкий А.Ф., Сечняк Л. К., Брединский А. А. 2004. Модификатор урожайных качеств семян пшеницы // *Fiziologia și biochimia plantelor de cultură (Aspecte Ecologice)*. Chișinău. P. 22 - 25.
3. Бабицкий А.Ф. 2005. Онтогенетическая наследственность // *Probleme actuale ale Geneticii, biotehnologiei și ameliorării*. Materialele Conferinței Naționale. Chișinău. P. 206 - 211.
4. Бабицкий А., Брединский А. 2005. Урожайные качества семян пшеницы степной зоны // *Analele științifice ale universității de stat din Moldova. Seria: Științe chimico - biologice*. Chișinău. P. 418-421.
5. Бабицкий А. 2005. Эволюция и репродуктивная память // *Genetica și ameliorarea plantelor, animalelor și microorganismelor*. Materiale Congresului VIII al Societății Științifice a Geneticienilor și Amelioratorilor din Republica Moldova, 29-30 septembrie 2005. Chișinău. P. 696-701.
6. Бабицкий А., Брединский А. 2006. Экология семян пшеницы степной зоны // *Analele Științifice ale Universității de Stat din Moldova, seria: Științe chimico-biologice*, Chișinău, 2006, p. 324 - 330.
7. Бабицкий А. Ф, Брединский А. А. 2006. Повышение урожайных качеств семян пшеницы // *Аграрная наука*, 2006, № 9, С. 5 – 7.
8. Бабицкий А. Ф, Брединский А. А. 2006. Урожайные качества семян пшеницы модифицирует влажность почвы // *Acta et commentationes, Univ.de Stat din Tiraspol, vol.2: Științe biologice, geografice, geologice, chimice și didactica geografiei, biologiei și chimiei*. Chișinău, 2006, p. 271 - 276.
9. Бауэр. Э. 1935. Теоретическая биология. М.-Л. ВИЭМ. 206 с.
10. Николис С., Пригожин И. 1979. Самоорганизация в неравновесных системах. М. Мир. 512 с.
11. Шредингер Э. 1947. Что такое жизнь с точки зрения физики. М. ИЛ. 146 с.

## ЭМОЦИОНАЛЬНЫЙ СТРЕСС КУПИРУЕТ РАЗВИТИЕ ОЖИРЕНИЯ И ДИАБЕТА 2 ТИПА У МЫШЕЙ С МУТАЦИЕЙ *AGOUTI YELLOW*

Н. М. Бажан, Е. Н. Макарова, Т. В. Яковлева, А. Ю. Шевченко  
*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Ответ организма на стресс включает в себя не только гормональную (активацию системы гипофиз-кора надпочечников), но и метаболическую реакцию (снижение веса тела и потребления пищи). У лабораторных мышей линии C57Bl/6J доминантная мутация *Agouti yellow* в гетерозиготном состоянии ( $A^y/a$ ) определяет желтый цвет шерсти, приводит к развитию меланокортинового ожирения и диабета 2 типа, рецессивная мутация *nonagouti* ( $a/a$ ) в гомозиготном состоянии определяет черный цвет шерсти и не приводит к развитию ожирения. Цель работы сравнить гормональный и метаболический ответ на хронический эмоциональный стресс у мышей различных агути-генотипов, контрастных по метаболическому статусу. Животные обоих генотипов были разделены на 2 две группы: контроль и хронический стресс (получасовая рестрикцией через день на протяжении 5 недель). Гормонально-метаболические параметры определяли на 1, 3, 5 неделе хронического стресса и у контрольных самцов соответствующего возраста. У  $a/a$ -мышей хронический стресс не влиял на вес тела, потребление пищи, уровни в крови лептина, инсулина и глюкозы. У  $A^y/a$ -мышей хронический стресс вызвал устойчивое снижение веса тела (на 2, 3, 4, 5 неделе), транзиторную гипофагию (на 3 неделе) и постепенное снижение уровня инсулина в крови, который на 5 неделе стресса не отличался от такового у  $a/a$ -мышей.

Для того, чтобы оценить связь между метаболическим и гормональным ответом на стресс, мы измерили уровень кортикостерона в крови у контрольных и хронически стрессированных мышей в состоянии покоя и после острого рестрикционного стресса (полчаса рестрикции). В контрольной группе базальные концентрации кортикостерона не менялись на протяжении 5 недель и не различались между генотипами. В группе хронически стрессированных мышей они были повышены, относительно контроля уже после 1 недели хронического стресса в равной степени у  $a/a$ - и  $A^y/a$ -мышей. У  $a/a$ -мышей базальная концентрация кортикостерона оставалась повышенной до конца эксперимента, а у  $A^y/a$ -мышей снизилась и на 5 неделе не отличалась от контроля. Стрессорные концентрации кортикостерона (после получасовой рестрикции) не менялись на протяжении 5 недель и не различались между агути-генотипами и группами. Таким образом: (1) эмоциональный стресс снижает вес тела и улучшает углеводный обмен у мышей, генетически-предрасположенных к развитию ожирения, (2) у  $A^y/a$ -мышей повышенная чувствительность к катаболическому действию стресса не связана с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Работа поддержана грантом РФФИ (06-04-48517-а) и государственной программой поддержки ведущих научных школ России (7071.2006.4).



## ВЛИЯНИЕ ИНБРЕДНОЙ СЕЛЕКЦИИ ПО ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К КАТАЛЕПСИИ НА ПОВЕДЕНИЕ У МЫШЕЙ.

Базовкина Д.В. \*, Кондаурова Е.М., Куликов А.В.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

Каталепсия (реакция замирания) представляет собой длительную неподвижность с пластическим тонусом мускулатуры и является разновидностью защитного поведения, проявляющегося в ответ на угрожающие стимулы такие, как появление хищника или атаку агрессивного сородича. Линия мышей ASC (antidepressant sensitive catalepsy) была получена в результате длительной инбредной селекции на высокую предрасположенность к каталепсии из популяции бэккроссов (CBAx(CBAxAKR)) между каталептической CBA/Icg и некаталептической AKR/J линиями.

Для выявления у мышей взаимосвязи между реакцией замирания, агрессией, тревожностью, депрессивноподобным поведением и проявлением страха было изучено влияние высокой предрасположенности к каталепсии на поведение этих животных в тестах межсамцовой агрессии, открытого поля, «свет/темнота», принудительного плавания, «tail suspension» и акустического рефлекса вздрагивания.

Мыши ASC характеризовались понижением исследовательской и двигательной активностей в тесте открытого поля, а также увеличением времени неподвижности в пробе принудительного плавания и «tail suspension» в отличие от линий CBA и AKR. Таким образом, селекция на предрасположенность к каталепсии усиливает у мышей депрессивноподобные черты поведения. У животных ASC выявлено значительное снижение процента агрессивных мышей по сравнению с родительскими линиями. Это хорошо согласуется с представлением о том, что агрессия и каталепсия представляют собой две альтернативные формы поведения в межсамцовых конфликтах. Отмечена положительная связь высокой предрасположенности каталепсии с амплитудой рефлекса вздрагивания, но не с тревожностью.

Наиболее вероятным молекулярным звеном, обеспечивающим связь между исследованными нами поведенческими признаками, является 5-HT<sub>1A</sub> рецептор нейромедиатора серотонина, который у грызунов вовлечен в регуляцию реакции замирания, «депрессивности», межсамцовой агрессии и рефлекса вздрагивания. К тому же, нами было показано возможное сцепление предрасположенности к каталепсии с геном, кодирующим этот рецептор.

*Исследование было поддержано грантом РФФИ (№05-04-48124) и междисциплинарным интеграционным проектом СО РАН №5.1.*

СЕЛЕКЦИЯ КРЫС ВИСТАР НА УСИЛЕНИЕ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ  
К МАЯТНИКООБРАЗНЫМ ДВИЖЕНИЯМ - ОТБОР НА УРОВЕНЬ  
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ? СВЯЗЬ  
С АУДИОГЕННОЙ ЭПИЛЕПСИЕЙ.

Барыкина Н.Н., Прокудина О.И., Чугуй В.Ф., Алехина Т.А., Колпаков В.Г.  
*Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской  
академии наук, Новосибирск 630090; e-mail: [baryk@bionet.nsc.ru](mailto:baryk@bionet.nsc.ru)*

Проведена селекция крыс Вистар в течение 24 поколений, в двух направлениях, на усиление частоты проявления и величины амплитуды маятникообразных движений (линия МД+) и на отсутствие (линия МД-) предрасположенности. Первые появления МД в виде горизонтальных раскачиваний головы и плечевого пояса возникают у крыс в возрасте 21 день и затем устойчиво сохраняются у взрослых животных. В предыдущих работах показано, что МД наследуется как доминантный признак с неполной пенетрантностью и его проявление обуславливается наличием генов альбинизма. Исследование предрасположенности крыс к аудиогенной эпилепсии показало, что частота встречаемости аудиогенных приступов в линии МД(+) к 24 поколению достигла 90 %, тогда как в линии Вистар и МД- – около 30 %. Показана генетическая взаимосвязь предрасположенности к МД с проявлениями животными “нервности”, в виде повышенной пугливости. У крыс линии МД+ изменено содержание моноаминов мозга в различных структурах. В частности, снижен норадреналин в среднем мозге и дофамин в промежуточном. Селекция на предрасположенность к МД привела к усилению агрессивности животных и понизила предрасположенность к каталепсии.

Хотя, первопричина предрасположенности к МД не совсем ясна, и возможно, МД являются проявлениями нистагма, следует отметить, что вряд ли в геноме существуют специальные гены, предназначенные для реализации такого рода движений. Судя по тому, что амплитуда МД возрастает при любых пугающих животное стимулах, и, согласно нашим наблюдениям, увеличивается непосредственно перед началом аудиогенного приступа, развитие которого связано с возрастанием тонического напряжения, и возбуждения, величина амплитуды в определенной степени отражает и уровень общего тонического напряжения (как нервно-мышечного, так и эмоционального). Вероятно, отбор на усиление амплитуды был и отбором на механизмы функционального состояния нервной системы, определяющего уровень возбудимости, что и объясняет в какой-то мере то, почему селекция привела к столь значительным изменениям, касающимся как нейрохимических, так и поведенческих показателей.

Генетическая связь между маятникообразными движениями (МД), аудиогенной эпилепсией и каталепсией, может указывать на существование связи между биологическими субстратами психотических расстройств человека.

Многие данные по исследованию психозов говорят о связи между кататонией и депрессией, а также между психозами и эпилепсией. Исследование нейрохимии и нейрофизиологии этих характеристик поможет показать, какие взаимоотношения существуют между биологическими основами психотических и эпилептических расстройств у человека.

## ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ AQP4 В РЕГУЛЯЦИИ ВОДНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ КЛЕТОК СОБИРАТЕЛЬНЫХ ТРУБОК ПОЧКИ МЫШИ И КРЫСЫ

Батурина Г.С., Ходус Г.Р., Каткова Л.Е., Соленов Е.И.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск.*

Нейрогипофизарный гормон вазопрессин повышает водную проницаемость апикальной мембраны главных клеток собирательных трубок за счет встраивания субапикальных везикул, содержащих AQP2, в апикальную мембрану. AQP3 и AQP4 опосредуют транспорт воды через базолатеральную мембрану клеток. Проводимость воды у всех аквапоринов обратимо ингибируется хлористой ртутью ( $\text{HgCl}_2$ ) и органическими соединениями ртути. Исключение составляет AQP4, первоначальное название которого mercurial insensitive water channel.

Целью данной работы являлось исследование ртуть-нечувствительной водной проницаемости собирательных трубок наружного мозгового вещества почки мыши и крысы.

У гидратированных животных водная проницаемость была ниже, чем у дегидратированных, как у крыс ( $P_f = 124.1 \pm 9.5$  и  $289.0 \pm 29.3$  мкм/с,  $n=9$ ,  $p<0.001$ ), так и у мышей ( $P_f = 168.4 \pm 11.8$  и  $226.7 \pm 12$  мкм/с,  $n=17$ ,  $p<0.01$ ). Инкубация изолированных собирательных трубок наружного мозгового вещества почки с dDAVP ( $10^{-8}$  М, 15 мин.) приводила к повышению водной проницаемости как у крыс ( $P_f = 124.1 \pm 9$  и  $182.1 \pm 15.8$  мкм/с,  $n=9$ ,  $p<0.05$ ) так и у мышей ( $P_f = 168.4 \pm 11.8$  и  $231.3 \pm 14.7$  мкм/с,  $n=17$ ,  $p<0.001$ ). Преинкубация канальцев с ингибитором протеинкиназы C Ro-31-8220 (100 nM, 10 мин.) приводила к подавлению эффекта dDAVP как у крыс ( $P_f = 115.3 \pm 19.7$  и  $105.4 \pm 14.8$  мкм/с,  $n=9$ ) так и у мышей ( $P_f = 191.31 \pm 16.0$  и  $219.4 \pm 24.7$  мкм/с,  $n=12$ ). Обработка фрагментов собирательных трубок дегидратированных крыс хлористой ртутью (1mM,  $\text{HgCl}_2$ ) вызывала достоверное подавление водной проницаемости ( $P_f = 289.0 \pm 29.3$  и  $176.6 \pm 15.1$  мкм/с,  $n=9$ ,  $p<0.01$ ). После отмывки ртути раствором PBS водная проницаемость восстанавливалась до контрольного уровня. В то же время ртуть не оказывала эффекта на водную проницаемость собирательных трубок почки дегидратированной мыши ( $P_f = 236.7 \pm 17.7$  и  $239.8 \pm 23.9$  мкм/с,  $n=13$ ).

Полученные нами данные позволяют предположить существование различий в регуляции водной проницаемости клеток собирательных трубок почки у мышей и крыс.

## КАК АКТИВИРУЕТСЯ РЕПРЕССОР ТРАНСКРИПЦИИ?

Н.Беляев

*Институт Клеточной и Молекулярной Биологии*

*Университет г. Лидса Великобритания*

Среди многих факторов, обеспечивающих корректную работу генов, одним из самых важных является регуляция генной экспрессии факторами транскрипции - активаторами и репрессорами. Предполагается, что факторы транскрипции способны узнавать специфические последовательности на ДНК. Взаимодействие с этими последовательностями обеспечивает сборку комплекса необходимого либо для активации, либо для репрессии гена. В состав таких комплексов входят ферменты, моделирующие хроматин, делая промотор гена либо способным к взаимодействию с РНК-полимеразной машиной, либо переводя хроматин, организующий промотор, в закрытое состояние.

Фактор транскрипции REST (RE-1 silencer transcription factor) является потенциальным регулятором активности нейронных генов. Практически все нейрон-специфичные гены имеют в своих промоторах или кодирующих участках RE-1 сайты - последовательности, способные связывать REST. RESTу отводилась роль репрессора нейронных генов во всех типах клеток кроме нейронов. Предполагалось, что активность нейрон-специфических генов в нейронах обеспечивается неактивностью REST и наоборот, если REST активно экспрессируется в иных клетках (не нейронных), то он репрессирует активность генов-мишеней.

Однако в нашей лаборатории было показано что REST на самом деле регулирует активность очень небольшого числа генов в не-нейронных клетках. При этом он репрессирует активность, но не делает гены молчащими. Кроме того, мы показали, что REST экспрессируется в нейронах и локализован в цитоплазме.

Механизм активации REST изучался нами на клеточных и животных моделях аутосомно-доминантной нейро-дегенеративной болезни Хантингтона. Причина болезни в мутации белка хантингтина, при которой число полиглутаматных трактов в белке превышает 35. Одной из характеристик болезни является падение уровня BDNF (brain derived neurotrophic factor), что может быть следствием нарушения транспорта BDNF из стриатума в кортикальные нейроны, либо репрессией гена BDNF. Ген BDNF содержит RE-1 сайт и потенциально является мишенью REST. Было показано, что в модели здоровых нейронов REST связывается с хантингтином дикого типа, удерживается в цитоплазме и в слабой степени вовлечен в регуляцию генной активности. Мутация хантингтина приводит к разобщению его взаимодействия с REST. При этом REST транслоцируется в ядро, занимает свой сайт связывания и репрессирует работу гена BDNF и многих других генов. Таким образом, нарушение связывания хантингтина и REST в результате мутации приводит к активации REST в качестве фактора транскрипции.

Мы показали, что REST локализован на микротрубочках и в делящихся клетках является частью митотического веретена. Взаимодействие REST с микротрубочками осуществляется через хантингтин, который ассоциирован с тубулином - белком, организующим микротубулиновый цитоскелет. Распад комплекса хантингтина и REST в результате мутации приводит не только к транслокации REST в ядро и его функционированию в качестве фактора транскрипции, но и к нарушению функции транспорта на тубулиновом цитоскелете.

Таким образом, нарушение структурной целостности комплекса REST и хантингтина и его корректной локализации имеет множественные последствия для жизнедеятельности нейронов.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВОПРОСА О НЕОБХОДИМОМ И ДОСТАТОЧНОМ КОЛИЧЕСТВЕ РАСШИФРОВАННЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Букин Ю.С.

*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, ул. Уланбаторская, 3, а/я 4199, 664033, Российская Федерация.  
bukinyura@mail.ru*

В связи с широкомасштабным развитием средств секвенирования ДНК молекулярно – генетические данные стали широко применяться при проведении популяционно-генетических исследований. В частности, с помощью специальных статистических методов на основе различий в рассматриваемых последовательностях ДНК можно оценить эффективный размер популяций и интенсивность потоков генов между различными популяциями. Все вышеперечисленные методы основываются на разработанной теории межпопуляционных потоков генов и теории генетического дрейфа.

В связи с тем, что процесс секвенирования ДНК все еще остается трудоемким и дорогостоящим, а, зачастую, и материал для генетического анализа трудно доступен, остро стоит вопрос о необходимом и достаточном количестве последовательностей ДНК для получения адекватного, статистически достоверного результата.

Для того чтобы определить количество последовательностей, необходимое для проведения генетического анализа, необходимо исследовать такие популяции, в которых рассматриваемый фрагмент ДНК расшифрован для всех организмов. Необходимый популяционный параметр первоначально подсчитывается исходя из всех известных последовательностей. Далее из всего набора данных выбирается ограниченное количество последовательностей, популяционный параметр подсчитывается по этому ограниченному набору данных. Полученный результат сравнивается с тем, который был получен по всей популяции. Последовательно увеличивая ограниченную выборку и сравнивая результат с полной популяционной выборкой, можно с любой точностью оценить сходимость результата генетического анализа и определить наиболее оптимальное количество последовательностей ДНК, необходимых для проведения исследований.

Сделать вышеописанный эксперимент на популяциях реальных организмов практически невозможно. Однако процессы генетического дрейфа и генетических потоков можно легко моделировать с помощью компьютеров. Используя компьютерные модели, возможно, получить полные наборы последовательностей ДНК популяций организмов с различными параметрами (эффективный размер популяции, вероятность мутации на один нуклеотид на поколение, интенсивность обмена генетическим материалом).

В нашей работе мы использовали компьютерные модели для исследования сходимости  $F_{st}$  критерия, применяемого для оценки генетических потоков, и величины  $\theta$ , применяемой для оценки эффективного размера популяций ( $\theta = 4N_e\lambda$ , где  $N_e$  - это эффективный размер популяции, а  $\lambda$  - вероятность мутации на один нуклеотид на поколение).

В процессе численных экспериментов исследовалась зависимость сходимости результатов популяционного анализа от эффективного размера популяций и от вероятности мутации на один нуклеотид на поколение.

В результате исследований было установлено, что при различных эффективных размерах популяции и различной вероятности мутации при числе расшифрованных последовательностей в 30 экземпляров ошибка вычисления  $F_{st}$  и  $\theta$  составляет порядка

25%. Более реальные результаты получаются при 50-60 последовательностей ДНК, взятых из каждой исследуемой популяции.

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОВ *Adh* И *YELLOW* *DROSOPHILA* *MELANOGASTER* ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Ваулин О.В., Захаров И.К.

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск,  
630090, Россия

В результате исследования линий, выделенных из североазиатских популяций *Drosophila melanogaster* и содержащихся в фонде лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН, изучена нуклеотидная изменчивость фрагментов гена *Adh* и интрона 1 гена *yellow*. Проведено сравнение изученных последовательностей с приведёнными в базе GeneBank последовательностями. Показано преобладание образцов, несущих диагностическую замену F-форетического аллеля гена *Adh* - из 59 изученных мух 45 были гомозиготны 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 североазиатских 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 нами нуклеотидная последовательность F-аллеля *Adh* является не только широко распространённой, но и полностью совпадает с предположительно предковой последовательностью, имеющей африканское происхождение. В исследованных азиатских популяциях были выявлены три варианта нуклеотидной последовательности, несущие диагностическую замену S-аллеля гена *Adh*. Один из них, отмеченный только в гетерозиготном состоянии у четырёх образцов, идентичен аннотированной последовательности U20765, соответствующей нуль-аллелю. Так как изученный нами фрагмент гена *Adh* у выявленных четырёх образцов не содержит каких-либо несинонимичных замен в экзоне, то вопрос о функциональной способности гена, несущего соответствующий набор замен, остаётся открытым. В случае, если рассматриваемые четыре образца несут нуль-аллель, то этот вариант гена является, по-видимому, широко распространённой в популяциях летальной мутацией. Один из двух других выявленных вариантов последовательности гена *Adh* отличается от аннотированной последовательности X60793 только единичной нуклеотидной заменой. Второй выявленный вариант несёт комбинации замен аннотированных последовательностей M17830 (Франция) с M17827 (Вашингтон, США) или M36580. Два последних выявленных в работе варианта были отмечены в гомозиготном состоянии, следовательно, не могут являться летальными. История образования этих вариантов последовательности гена *Adh* *Drosophila melanogaster* не ясна.

При анализе нуклеотидной последовательности фрагмента интрона гена *yellow* выявлена низкая степень изменчивости этой последовательности. Из 42 образцов только один несёт 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 азиатских популяций от африканских.

Таким образом, картины подразделённости ареала *Drosophila melanogaster*, полученные на основе сравнения нуклеотидных последовательностей фрагментов генов *Adh* и *yellow* из географически удалённых 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 расселении 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, количество X-хромосом в популяциях меньше, чем количество каждой из аутосом, что лежит в основе 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.

Настоящая работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-48838 с использованием ресурсов ЦКП «Секвенирование ДНК» СО РАН (г. Новосибирск, <http://sequest.niboch.nsc.ru>).



ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИКИ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СЕВЕРНОЙ  
АЗИИ

М.И. Воевода, А.Г. Ромащенко

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

Текст тезисов не представлен.

## РОЛЬ ГЕНОТИПА ВО ВЛИЯНИИ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ МОЗГА НА СТАНОВЛЕНИЕ АГРЕССИВНОСТИ.

Н.Н.Войтенко

*Институт цитологии и генетики СО РАН. Новосибирск*

Агрессивное поведение является жизненно важной физиологической функцией, адекватный уровень которой обеспечивает особи высокий иерархический статус, а экспериментальное понижение активности МАО А в пренатальном онтогенезе или генетически детерминированное отсутствие гена МАО А сопровождалось повышенной агрессивностью у взрослых особей /Murphy et al. 1991; Brunner et al. 1993; Whitaker-Azmitia et al. 1994; Cases et al. 1995/. Предыдущие работы /Войтенко, 2002; Войтенко, Храпова 2004; Войтенко 2005; Войтенко 2006 /, выполненные на мышах пяти генотипов C57BL, DBA, AKR, A/He, DD, позволили предположить, что становление агрессивности у мышей этих генотипов происходит в пренатальном и в раннем постнатальном онтогенезе, в период развития серотониновых нейронов ядер шва среднего мозга, и утверждать, что становление агрессивного поведения находится под контролем генотипа, который создает геномное обеспечение регуляции активности МАО А мозга. Исходя из приведенных предпосылок, возникли вопросы: 1) понижается ли активность МАО А в мозгу у этих генотипов мышей в пренатальном и в раннем постнатальном периоде онтогенеза; 2) а если понижается, то сопровождается ли это понижение активности МАО А в мозгу мышей в раннем онтогенезе повышением агрессивности этих мышей в половозрелом возрасте 2-мес? В тесте резидент-интродер в 2-мес возрасте наиболее агрессивными были мыши C57BL; безагрессивными мыши – DD; среднеагрессивными - мыши DBA, AKR, A/He. У этих пяти генотипов мышей снижение активности МАО А в мозгу в раннем онтогенезе на 18-, 19- сутки эмбриогенеза и на 1-5, 10-сутки новорожденности начиналось и заканчивалось не одновременно. У высокоагрессивных мышей C57BL активность МАО А в мозгу начинала снижаться с 19-суток эмбриогенеза и продолжалась до 10-суток новорожденности. У безагрессивных мышей DD снижение активности МАО А в мозгу начиналось позднее, с 3-суток новорожденности и продолжалось до 10-суток новорожденности, как и у высокоагрессивных мышей C57BL. Полученные данные позволили считать, что 19-сутки эмбриогенеза, 1-, 2-сутки новорожденности являются существенными в становлении агрессивности у мышей C57BL и безагрессивности у мышей DD. У среднеагрессивных мышей DBA и AKR снижение активности МАО А в мозгу начиналось с 19-суток эмбриогенеза, как и у высокоагрессивных мышей C57BL, но заканчивалось раньше, чем у мышей C57BL: у мышей AKR на 5-сутки новорожденности, у мышей DBA – на 3-сутки новорожденности. Эти данные наводят на мысль о том, что в становлении интенсивности агрессивности существенным фактором является продолжительность снижения активности МАО А в раннем постнатальном онтогенезе. В исходной точке онтогенеза в нашем исследовании у 18-суточных эмбрионов мышей A/He активность МАО А в мозгу была уже существенно ниже, чем у высокоагрессивных мышей C57BL и безагрессивных мышей DD и существенно не снижалась в ходе изучавшихся периодов онтогенеза по сравнению с исходным уровнем. Не исключено, что исходно низкая активность МАО А в мозгу эмбрионов мышей A/He без последующего снижения является фактором, который способствует становлению средневыраженной агрессивности у 2-мес мышей A/He. Таким образом, у мышей C57BL, DBA, AKR, DD в изучавшемся раннем онтогенезе наблюдалось снижение активности МАО А в мозгу. Начало и конец этого снижения находились в зависимости от генотипа особи. Снижение активности МАО А в мозгу в раннем онтогенезе у мышей C57BL, DBA, AKR в 2 мес

возрасте сопровождалось зависимой от генотипа интенсивностью агрессивности и отсутствием агрессивности – безагрессивностью у мышей DD. Исходно пониженная активность MAO A в мозгу мышей A/He в раннем эмбриональном периоде, сопровождалась становлением средневыраженной агрессивности у 2-мес мышей этого генотипа.

## ОТБОР НА ДОБРОЕ И ЗЛОЕ ОТНОШЕНИЕ К ЧЕЛОВЕКУ ПО-РАЗНОМУ ВЛИЯЕТ НА ЗВУКОВОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОБЫКНОВЕННОЙ ЛИСИЦЫ, *Vulpes vulpes*

Володин И.А.<sup>1,2</sup>, Гоголева С.С.<sup>1</sup>, Володина Е.В.<sup>2</sup>, Трут Л.Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, volodinsvoc@mail.ru

<sup>2</sup> Отдел научных исследований Московского зоопарка

<sup>3</sup> Лаборатория эволюционной генетики ИЦиГ СО РАН

Отбор на доброе или злое отношение к человеку оказывает значительное воздействие на морфологию, физиологию и поведение обыкновенных лисиц. Помимо этого, происходят также видимые качественные и количественные изменения в звуковом поведении, адресованном людям. Целью нашего исследования было сравнить уровень звуковой активности и встречаемость разных типов криков в ситуации общения с человеком у обыкновенных лисиц пяти различных селекционных групп: фермерских не подвергавшихся отбору (Диких), подвергавшихся отбору на доброе отношение к человеку (Добрых), подвергавшихся отбору на злое отношение к человеку (Злых), гибридов первого поколения между Добрыми и Злыми (Гетерогенных), и гибридов между Гетерогенными и Добрыми (Беккроссов). Крики от сидящих поодиночке взрослых самок лисиц: 25 Диких, 25 Добрых (44-45 генерации от начала селекции), 25 Злых (34-35 генерации от начала селекции), 10 Гетерогенных и 19 Беккроссов, были записаны в июле-августе 2005 г во время общения с незнакомым человеком, который стоял рядом с клеткой фокальной лисицы, воздействуя на животное своим присутствием. Длительность записи криков от каждой лисицы составляла 5-6 мин, и была представлена в виде одного звукового файла. При анализе звуков в каждом звуковом файле определяли структурный тип каждого крика, измеряли его длительность, а также отмечали присутствие в крике артикуляционных эффектов и нелинейных вокальных феноменов. Всего было проанализировано 18072 крика от 104 животных. Также, для лисиц всех селекционных групп, кроме Диких, были известны балльные оценки поведения по отношению к человеку по шкале агрессивность - доброта.

Крики лисиц при общении с человеком включали 5 типов тональных (скуление, мычание, кудахтанье, мычание и лай) и 3 типа шумовых криков (шумное дыхание, фырканье и кашель). К классу тональных звуков мы относили крики, имеющие тональный спектр с основной частотой и ее гармониками и издаваемые по всей вероятности при помощи голосовых связок. Тональные звуки также часто содержали различные нелинейные феномены и/или артикуляционные эффекты. К классу шумовых звуков мы относили крики с широкополосным спектром, в которых отсутствовала основная частота, и которые издавались не голосовыми связками, а, вероятно, за счет турбулентности при прохождении воздуха через сужения вокального тракта.

Из всех восьми типов только скуление и мычание встречались у представителей всех пяти групп. Кудахтанье и шумное дыхание встречались только у Беккроссов и Добрых лисиц, тогда как фырканье и кашель - почти исключительно у Злых и Диких лисиц. Лай встречался наиболее редко (всего 11 звуков, 0.08% от всех звуков) и был отмечен только у двух Злых лисиц. В целом, использование разных типов криков практически не различалось у Диких и Злых лисиц. С другой стороны, вокальное поведение при общении с человеком очень сильно различалось у Диких и Злых, с одной стороны, и Добрых лисиц, с другой. Таким образом, отбор на злое отношение к человеку практически не приводит к изменению вокального поведения лисиц по сравнению с Дикими. Наоборот,

отбор на доброе отношение к человеку приводит к качественным изменениям используемых при общении с ним типов криков.

Очень неожиданным было вокальное поведение Гетерогенных лисиц. В поведенческих тестах гибриды между Добрыми и Злыми лисицами проявляют либо доброе, либо злое поведение по отношению к человеку, и почти не проявляют промежуточных форм. Поэтому мы ожидали найти у Гетерогенных лисиц звуки как Злых, так и Добрых. Однако у Гетерогенных лисиц эти типы криков практически полностью отсутствовали и 97% криков составляли скуления. Таким образом, в ряду Злые – Гетерогенные – Добрые не наблюдалось последовательной смены одного типа крика другим, а происходило полное исчезновение одних типов криков и, затем, появление совершенно других.

Все группы лис, подвергавшиеся отбору по поведению, проявляли достоверно более высокую вокальную активность (отношение суммарной длительности всех криков к длительности записи) по сравнению с контрольной группой (Дикими). Эти данные подтверждают гипотезу Кохена и Фокса (Cohen, Fox, 1976), что в процессе domestikации домашней собаки был снят блок «на молчаливость», который присутствует у диких псовых для того, чтобы не привлекать хищников и не отпугнуть потенциальную добычу.

У Гетерогенных и Беккроссов уровень вокальной активности был наибольшим среди всех групп, подвергавшихся отбору по поведению. Кроме этого, лисицы этих двух групп больше всего использовали скуления, особенно Гетерогенные. Для других видов млекопитающих известно, что относительная величина вокальной активности зависит от уровня возбуждения животного и тем выше, чем выше уровень возбуждения. Таким образом, можно предположить, что гибридные лисы (Гетерогенные и Беккроссы) были больше возбуждены во время общения с человеком, чем родительские формы (Добрые и Злые лисицы). Возможно, это было связано с отсутствием однозначности в реакциях по отношению к человеку лисиц гибридных групп и связанным с ним состоянием фрустрации. Таким образом, скуление у обыкновенных лисиц не связано ни с добротой, ни со злобностью и по-видимому является маркером состояния фрустрации.

Сравнение встречаемости различных артикуляционных явлений с балльной оценкой агрессивности - доброты показало, что встречаемость артикуляционных явлений в скулениях отрицательно коррелирует с добротой. В отличие от этого, встречаемость нелинейных феноменов не коррелировала ни с добротой, ни со злобностью. Известно, что нелинейные феномены полностью определяются работой голосовых связок, а артикуляционные эффекты – напротив, - определяются работой вокального тракта, расположенного выше голосовых связок. Таким образом, прослеживается очень интересная закономерность связи вокальных индикаторов злобности с активной работой вокального тракта. У Злых лисиц в случае шумовых сигналов (кашель, фыркание) вокальный тракт выступал в качестве источника звука, а в случае тональных звуков (скулений и, возможно, мычаний и рычаний) – в качестве активного модификатора сигнала голосовых связок. В отличие от этого, модификации звука на уровне голосовых связок не были связаны с добротой или злобностью лисиц. Можно предположить, что агрессивно-злобное поведение по отношению к человеку вызывает напряжения определенных групп мышц, что опосредованно воздействует на форму вокального тракта и характер работы артикуляторов.

Наши данные свидетельствуют, что сама по себе domestikация не приводит автоматически к гипертрофированному увеличению использования лая, хотя он изначально и присутствует в репертуаре лисиц. В отличие от собак, лисы для общения с человеком отдают предпочтение другим типам вокализаций – кудахтанью и шумному дыханию. У родственных лисице американского корсака *Vulpes velox* и песца *Alopex lagopus* кудахтанье используется для общения между партнерами пары и родителей с детенышами. Т.е. добрые лисы, как и собаки, рассматривают человека как "социального компаньона", и адресуют ему крики, в норме направленные на партнеров самого близкого

окружения. Вероятно, у разных видов псовых предпочтения в использовании того или иного типа вокализации при общении с человеком диктуются не только эффектами доместикации, но также и видовыми особенностями.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 06-04-48400).

## АКТИВАЦИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ЗАЩИТНЫХ МЕХАНИЗМОВ В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПОКОЛЕНИЯХ *MUSCA DOMESTICA* L. ПРИ ДЕЙСТВИИ ВЫСОКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ И N-АЦЕТИЛ-D-ГЛЮКОЗАМИНА

Гайфуллина Л.Р., Салтыкова Е.С., Николенко А.Г.

Институт биохимии и генетики УНЦ РАН, Уфа, Россия, [lurim78@mail.ru](mailto:lurim78@mail.ru)

Развитие резистентности насекомых к неблагоприятным факторам среды объясняется исключительно отбором устойчивых особей. Задача данного исследования заключалась в проверке возможности наследования индуцированных изменений защитных биохимических систем в поколениях *M. domestica*. Для ее решения в серии экспериментов оценивался уровень активности ферментов защитных систем – фенолоксидазной и антиокислительной – в двух поколениях *M. domestica* линии Соопер при действии факторов разного типа действия на родительское поколение. В качестве первого действующего фактора использовался N-ацетил-D-глюкозамин (NAGA) – структурный элемент хитина, а также компонент клеточных стенок многих микроорганизмов, индуцирующий ряд изменений отдельных биохимических показателей насекомых, сходных с реакцией на действие бактериального препарата (Салтыкова и др., 2003). Второй способ воздействия осуществлялся тепловым стрессом, инициирующим у насекомых комплекс общих защитных реакций.

Получасовое воздействие на личинок высокой температуры индуцировало дополнительную изоформу фенолоксидазы с Rf 0,52. Добавление в среду личинкам NAGA инициировало появление у личинок двух более легких изоформ с Rf 0,3 и 0,7 и суперлегкой, опережающей краситель, с Rf 1,2. Индуцированные изоформы фенолоксидазы обнаруживались на стадии куколки и имаго. При действии на личинок *M. domestica* NAGA и высокой температуры на последующих стадиях онтогенеза насекомого также регистрировалось повышение активности фенолоксидазы, каталазы и пероксидазы, что в целом показывает возможность формирования долговременной защитной реакции ферментативных систем на биотическое и абиотическое воздействие в онтогенезе насекомого.

В результате воздействия на *M. domestica* теплового стресса или NAGA индуцированные изоформы фенолоксидазы, а также повышенные уровни активности фенолоксидазы, каталазы и пероксидазы регистрировались в последующих поколениях насекомого на отдельных стадиях онтогенеза. Причем активность ферментов антиокислительной системы и фенолоксидазы обнаруживала повышенный уровень при тепловом стрессе родительского поколения только в поколении F1, а при действии NAGA на родительское поколение – в двух последующих поколениях. Аналогичным образом, молекулярные формы фенолоксидазы, индуцируемые тепловым стрессом в родительском поколении, сохранялись только в поколении F1. Легкие же изоформы с Rf >1, индуцированные в родительском поколении действием NAGA, стабильно воспроизводились в двух последующих поколениях комнатной мухи.

С точки зрения классической менделевской теории наследственности, передача адаптивного ответа организма на условия среды последующим поколениям невозможна. Однако за последние 20 лет появилось много экспериментальных данных, не вписывающихся в классическую теорию наследственности и свидетельствующих в пользу выдвинутого 2 века назад Ж.Б.Ламарком принципа наследования приобретенных признаков (Каллис, 2000; Стил и др., 2002). Так, на самоопыляющихся растениях было показано, что модификации генома могут происходить как в процессе развития, так и под влиянием разного вида стрессов (Amzallag et al., 1993; Natali et al., 1993). Путем изменения

концентрации некоторых специфических минеральных добавок или температуры были получены генотрофы льна, обладавшие фенотипом, стабильно измененным на протяжении большого числа поколений безотносительно к условиям их произрастания, и отличавшиеся от исходной линии и между собой по таким признакам, как вес и высота растений, общее содержание ядерной ДНК и изоферментный спектр пероксидазы и фосфатазы (Durrant, 1962; Fields, Tyson, 1973; Cullis, 1981). Адаптивность возникших изменений предполагалась тем, что каждая индуцированная форма растения развивалась лучше в тех условиях, которые вызвали ее появление. Были также продемонстрированы длительно экспрессируемые температурой модификации количественных признаков у дрозофилы, наследовавшиеся в длинном ряду поколений без дополнительных воздействий (Светлов, Корсакова, 1966). В качестве возможных и экспериментально подтвержденных механизмов наследования приобретенных признаков, преодолевающих барьер Вейсмана, выступают эпигенетическое наследование, включая парамутации и точковые мутации, индуцированные повторами, и мобильные генетические элементы, открытые у про- и эукариотических организмов, в том числе и у насекомых, и участвующие в экспрессии генов и полигенов, в отборе по количественному признаку, в индуцированной изменчивости генов и признаков, а также в эволюционной реорганизации молекулярно-генетического управления в клетке (Каллис, 2000).

Следовательно, интерпретация полученных нами данных может не ограничиваться отбором особей с повышенным уровнем активности рассматриваемых ферментативных систем, поскольку, с точки зрения вышеизложенных аспектов неоламаркистской концепции, полностью не исключена и возможность наследования наблюдаемых изменений в защитных ферментативных системах. Более точное объяснение механизмов наблюдаемого нами явления, вероятно, возможно будет получить в результате серии подробных последующих исследований.



## ГЛЮКОКОРТИКОИДНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ МОЗГА И ИЗМЕНЕНИЕ ИХ ЭКСПРЕССИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДОМЕСТИКАЦИИ СЕРЫХ КРЫС

Ю. Э. Гербек, О. В. Ильина, И. Н. Оськина

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

Доместикация животных является одной из интереснейших экспериментальных моделей эволюции. К настоящему времени описаны многочисленные изменения, накопленные в ходе искусственного отбора. Небольшой в эволюционном масштабе отрезок времени, затраченный человеком на доместикацию животных, позволяет говорить об исключительно высокой скорости этих преобразований. Не исключено, что причиной быстрых эволюционных изменений может являться отбор, изменяющий ключевые системы организма, такие как гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система (ГГНС).

Изменения в ГГНС серых крыс являются одними из наиболее ярких примеров наследственных преобразований, возникших в результате отбора на ручное и агрессивное поведение, проводящегося в Институте цитологии и генетики. Это, вероятно, объясняется тем, что отбор на доместикацию является, по сути, отбором на стресс-устойчивость; ГГНС же играет важнейшую роль в развёртывании ответа на стресс.

Конечным звеном ГГНС, участвующим в регуляции практически всех физиологических и биохимических процессов в организме и опосредованно в регуляции многих поведенческих реакций, являются глюкокортикоиды. Множественные эффекты этих гормонов на различные функции организма обеспечиваются их связыванием с глюкокортикоидными рецепторами (ГР), регуляция же глюкокортикоидов происходит посредством глюкокортикоидной отрицательной обратной связи, важным звеном которой являются ГР гиппокампа. Ослабление функции ГГНС у ручных крыс по сравнению с агрессивными, в частности, выражается в меньшей концентрации глюкокортикоидов в крови и в большем количестве ГР в гиппокампе.

Одной из целей данной работы было установить, обусловлены ли различия в количестве ГР в гиппокампе у ручных и агрессивных крыс различным уровнем его мРНК. Именно в гиппокамп поступает и обрабатывается контекстуальная информация и сенсорные сигналы (напр., появление хищника, определение местонахождения, запахи и звуки) и устанавливается их взаимосвязь. Через связывание с ГР гиппокампа глюкокортикоиды участвуют в оценке потенциальной опасности окружающей среды, в консолидации приобретенной информации, эпизодической и пространственной памяти. С помощью метода полуколичественной ОТ-ПЦР нами было установлено, что уровень мРНК ГР в гиппокампе у ручных крыс вдвое выше, чем у агрессивных. Известно, что изменение длины светового дня и возраста крыс изменяет количество мРНК ГР в гиппокампе. Однако, нами было показано, что различия в этом показателе между ручными и агрессивными крысами существенно не меняются.

Другой структурой мозга, тесно связанной с глюкокортикоидной отрицательной обратной связью является фронтальная кора. С помощью того же метода нами было обнаружено, что количество мРНК ГР в этой структуре мозга у ручных крыс значительно выше, чем у агрессивных. Широко известна важная роль фронтальной коры в регуляции многих типов поведения, эмоциональных реакций, процессов обучения и памяти. Показаны её многосторонние влияния на реакцию застывания, а также тревожность и страх. Известно также, что тревожность, сопровождающаяся повышением глюкокортикоидной секреции, также может быть связана с дисфункцией фронтальной коры. Не исключена возможность того, что она также участвует и в регуляции поведения

животных по отношению к человеку. Проявления всех перечисленных физиологических и поведенческих процессов, в которых участвует как гиппокамп, так и фронтальная кора различаются у ручных и агрессивных крыс.

Известно, что неонатальный хэндлинг также вызывает изменения в ГГНС. Наблюдаемые при этом модификации аналогичны как указанным выше, так и другим различиям в ГГНС, возникшим при отборе на агрессивное и ручное поведение. Даже само по себе содержание животных в неволе без направленного искусственного отбора по поведению и хэндлинга всё же приводит к медленной доместикации. Это позволяет предполагать, что при экстремальном давлении отбора модификационная изменчивость ГГНС канализирует микроэволюционные изменения в нейроэндокринных механизмах ответа на стресс.

Работа поддержана РФФИ (грант № 05-04-48378).

КРИЗИСЫ И РЕВОЛЮЦИИ. ГЕННО-КУЛЬТУРНАЯ ПАРАДИГМА.

В.И. Глазко

*Российский государственный аграрный университет МСХА им. К.А. Тимирязева,  
Москва, Россия*

**СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: РЕАЛИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ.**

Т.Т. Глазко

*Российский государственный аграрный университет МСХА им. К.А.Тимирязева,  
Москва, Россия*

## ПРИЗНАКИ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ В ЗВУКАХ ОБЫКНОВЕННЫХ ЛИСИЦ (*Vulpes vulpes*), РАЗЛИЧАЮЩИХСЯ ПО ТОЛЕРАНТНОСТИ К ЧЕЛОВЕКУ

Гоголева С.С.<sup>1</sup>, Володин И.А.<sup>1,2</sup>, Володина Е.В.<sup>2</sup>, Трут Л.Н.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, gogolevasv@mail.ru

<sup>2</sup> Отдел научных исследований Московского зоопарка

<sup>3</sup> Лаборатория эволюционной генетики ИЦиГ СО РАН

В предшествующем исследовании нами было обнаружено, что фермерские лисицы, проявляющие доброе или злое отношение к человеку, значительно различаются по использованию разных типов криков при общении с ним. Лисицы, толерантные к человеку (Добрые) используют такие типы криков как кудахтанье и шумное дыхание, тогда как лисицы, агрессивные к человеку (Злые) используют кашель и фыркание. Кроме того, было показано, что наборы типов криков, используемых при общении с человеком, не различаются у Злых лисиц и не подвергавшихся отбору по поведению контрольных фермерских лисиц (Диких). В этом исследовании мы попытались оценить направленность изменения характеристик вокальной активности лисиц разных селекционных групп в зависимости от пассивного или активного поведения наблюдателя по отношению к животным.

Крики от сидящих поодиночке взрослых самок лисиц: 25 Диких, 25 Добрых (45-46 генерации от начала селекции) и 25 Злых (35-36 генерации от начала селекции), были записаны в июле-августе 2006 г во время тестовой процедуры, моделируемой для каждой из лисиц одним и тем же наблюдателем, который также записывал их звуки. Тестовая процедура включала пять ступеней, причем от первой к третьей ступени двигательная активность наблюдателя нарастала, а от третьей к пятой – убывала. Во время первой ступени наблюдатель спокойно, не двигаясь, стоял в 0.5 м перед решеткой клетки фокальной лисицы. Во время второй ступени наблюдатель, находясь на той же дистанции, совершал движения рукой или корпусом справа налево и наоборот, не приближаясь к решетке. Во время третьей ступени наблюдатель совершал движения рукой и корпусом вперед-назад, т.е. наклонялся либо приближал-удалял руку к решетке. На этой ступени минимальная дистанция до решетки была 0 см, и лисица могла вступать в тактильный контакт с наблюдателем, если хотела этого. Четвертая ступень была равнозначна второй, а пятая - первой. Каждая ступень длилась 2 минуты, весь тест с одной лисицей занимал 10 минут. Всего было проведено 75 тестов, по одной на особь.

Запись криков в течение каждой ступени теста была представлена в виде одного звукового файла. В пределах каждого файла были удалены все интервалы между звуками фокальной лисицы, а также все посторонние шумы и звуки, записанные с избыточным уровнем записи. Таким образом, для каждой лисицы для каждой ступени теста был получен суммарный профиль вокальной активности, состоящий из всех звуков данного животного. Для каждого суммарного профиля были измерены доля вокальной активности (отношение суммарной длительности всех криков к длительности записи), частота максимальной амплитуды и три квартили энергетического спектра (охватывающие соответственно 25, 50 и 75% всей энергии звука), отражающие распределение звуковой энергии в пределах частотного диапазона.

Ход изменений всех характеристик вокальной активности как у Диких, так и у Злых лисиц полностью повторял динамику двигательной активности наблюдателя в течение тестовой процедуры. От первой к третьей ступени теста доля вокальной активности и частота максимальной амплитуды достоверно возрастали, а энергия звуков перераспределялась в

верхнюю часть спектра. От третьей к пятой ступени теста, наоборот, происходило достоверное снижение величин всех характеристик вокальной активности лисиц. В то же время ход изменений характеристик вокальной активности у Добрых лисиц совершенно не совпадал с динамикой активности наблюдателя. Максимальные значения всех величин характеристик вокальной активности Добрых лисиц наблюдались на первой ступени, то есть в течение пассивного стояния наблюдателя перед клеткой. Затем следовало постепенное, от ступени к ступени, снижение значений характеристик вокальной активности до минимальных, характерных для пятой ступени. Таким образом, вокальный ответ на активность наблюдателя был очень сходным у Диких и Злых лисиц и принципиально отличающимся - у Добрых. У двух первых групп активность наблюдателя полностью определяла характеристики вокальной активности животных, в то время как вокальная активность Добрых лисиц не зависела от двигательного поведения человека. Из исследований, проведенных на других видах млекопитающих известно, что увеличение доли вокальной активности и перераспределение энергии в высокочастотную область спектра свидетельствует об усилении эмоционального возбуждения животного. Таким образом, уровень возбуждения Диких и Злых лисиц полностью определялся поведением наблюдателя: возрастал при усилении его двигательной активности и снижался при ослаблении. Наоборот, Добрые лисицы были максимально возбуждены в момент появления человека перед клеткой, и в дальнейшем их возбуждение снижалось вне связи с изменениями активности наблюдателя.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 06-04-48400).

## ДОМЕСТИКАЦИЯ ЗЛАКОВ: ПОИСК НОВЫХ ПОДХОДОВ ДЛЯ РЕШЕНИЯ СТАРОЙ ПРОБЛЕМЫ

Н.П. Гончаров, К.А. Головнина, С.А. Глушков, Е.А. Кондратенко, В.К. Шумный  
*Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090 Новосибирск, Россия*

При переходе к современному средиземноморскому климату на значительных территориях распространились однолетние самоопыляющиеся крупнозерные и крупносемянные растения. Их плоды были удобны для интенсивного собирательства и, что немаловажно - для длительного хранения. Археологические данные позволяют сделать заключение, что злаковые растения ячмень и пшеницы были одними из первых среди доместичированных растений. Их начали культивировать на пороге эпохи шлифованного камня - неолита. Причем доминирующее положение в истории человечества заняли культуры Востока ориентированные на возделывание хлебных злаков. Селекция злаков - одно из самых ранних интеллектуальных достижений человека.

Поиск механизмов возникновения морфологических изменений в ходе доместикации является одной из старейших проблем эволюционной биологии. Привлечение новейших молекулярно-биологических методов для ее решения дает ключ к пониманию этих механизмов, и позволяет выполнить реконструкцию возможного сценария вовлечения в селекцию признаков, отличающих дикорастущие формы от доместичированных. Предполагается, что явные физиологические и морфологические отличия, имевшие важное значение для древнего земледельца, возникли вследствие качественных и/или количественных изменений локусов, регулирующих программы развития растения. Данная гипотеза позволяет выявить механизм появления у возделываемых растений определенных признаков в ходе доместикации и связать направление отбора с характером генетического контроля таких признаков.

С целью изучения механизмов доместикации в настоящее время ведется активная работа по поиску и клонированию функциональных генов, ответственных за сельскохозяйственно-важные признаки. Идентификация таких генов позволит реконструировать биохимические механизмы, вовлеченные в процесс доместикации. Для того чтобы определить и клонировать ген, ответственный за определенный признак (так называемый функциональный маркер) необходимо установить потенциальный кандидатный локус признака на генетической карте (обычно отождествляют с геном, ответственным за данный признак), который картирован в той же самой позиции, где QTL (quantitative trait locus) данного признака, или искомый ген (локус) может быть определен если изначально известны регуляторные и биохимические пути, связанные с экспрессией признака. В некоторых случаях разработаны функциональные маркеры (FM - functional marker), связанные с фенотипическими вариантами признаков, важных для селекции и успешного культивирования растений.

Разработка FM-маркеров является наиболее важной, так как имеет и диагностическую ценность. Специфические функционально - значимые домены гена могут послужить основой для FM маркеров. Существует несколько примеров известной взаимосвязи между структурой доменов в последовательности гена и его функцией. Например, разработаны FM маркеры для генов, контролирующих характеристики роста растения и время цветения у злаков (у риса посевного - *Hd1*, *Hd6*, *Hd3*, у кукурузы - *atb1*, *Dwarf8*). В настоящее время выделены еще несколько генов у различных культур, контролирующих хозяйственно-важные признаки, которые также могут быть использованы для изучения эволюционных процессов происходящих при доместикации.

К таким генам относится группа генов *Vrn* (response to vernalization), контролирующих скорость развития и яровисть-озимость у пшениц.

У многих видов культурных и дикорастущих травянистых растений умеренного климатического пояса имеются яровые (криофобные) и озимые (криофильные) формы, возникшие в результате адаптации к условиям произрастания. Яровые растения проходят весь цикл развития в течение одного лета. Растения, которые до осени не переходят к генеративному развитию без предварительного воздействия низкой температурой, называют озимыми. Среди сельскохозяйственных культур виды, имеющие озимые и яровые формы, составляют значительную группу. Переход от возделывания озимых культур к возделыванию яровых позволяет увеличить суммарный урожай без видимых затрат, кроме таковых на проведение одной дополнительной посевной, так как под озимыми культурами поле занято два года, под яровыми - один.

У гексаплоидных видов пшениц яровость контролируется четырьмя доминантными неаллельными генами *Vrn* (Goncharov, 2003), в то время как у культурной однозернянки *T. monosocum* L. - двумя, один из которых, *Vrn1*, доминантный, а другой, *vrn2*, - рецессивный (Tranquilli, Dubcovsky, 1999). Для локуса *VRN1* *T. monosocum* была сконструирована детальная генетическая карта, создана и скринирована библиотека клонов и сиквенирована его последовательность (Yan et al., 2003). В результате были обнаружены два гена, *API* и *AGLGI*, содержащие MADS-box и косегрегирующие с геном *Vrn1*. Анализ экспрессии и аллельной вариабельности показал, что ген *API* является лучшим кандидатом на роль гена *Vrn1*, чем ген *AGLGI* (Yan et al., 2003).

Установлено, что основные механизмы яровизации связаны с мутациями в кодирующей части гена *Vrn2*, либо с делецией (делециями) в промоторной области или первом интроне гена *Vrn1*. В докладе обсуждаются полученные результаты в свете предложенной гипотезы.



## ЭНДОСКЕЛЕТНЫЕ КЛОСТРИДИИ И ЭУКАРИОГЕНЕЗ: НОВЫЙ СЦЕНАРИЙ ПЕРВИЧНЫХ ПРОКАРИОТНО-ЭУКАРИОТНЫХ ТРАНСИЦИЙ

Гончиков Г. Г.

*ИОЭБ СО РАН Бурятия, Россия*

Согласно теории эндосимбиогенеза, ДНК-содержащие клеточные органеллы эукариот имеют прокариотные корни. Анcestорами ядра считаются предковые археи, митохондрии – протеобактерии, хлоропластов – цианобактерии. Остается не решенным вопрос о происхождении цитоскелета. Предлагается новый сценарий эукариогенеза, где в качестве анcestоров цитоскелета и клеточной сомы эукариот рассматриваются предки эндоскелетных фирмикут. К их современным видам можно отнести клостридии, эндоспора которых снабжена внешними белковыми придатками. Впервые столь необычные и непонятные структуры бактерий были выявлены В.И. Дудой с коллегами около 40 лет назад. Вместе с тем, проведенный нами сравнительно-биологический анализ клеточных систем типа “клетка в клетке” на разных системных уровнях организации – геномном, транскриптомном, протеомном, метаболомном и феномном (фенотипическом), - показывает, что эндоскелетные клостридии и эуриархеи – взятые как возможные соанcestоры ядерного генома, - проявляют признаки комплементарности свойств, а эндоскелетные клостридии и амитохондрияльные эукариоты (последние – как вероятные эндосимбиотические производные) – обладают клеточной ортологией, или вертикальным, от эндоскелетных клостридий к амитохондриятам, наследованием клеточных элементов. Вследствие этого их субклеточные структуры - белковые придатки эндоспор, и структуры динамического цитоскелета, - практически идентичны в отношении целого ряда цитоморфологических, структурно-функциональных и химических характеристик. Так, по клеточной топологии и те и другие - это системные элементы «внешних» клеток, возникающие – в зависимости от стадий клеточных циклов, - на поверхности «внутренних» (проспоры, ядра). Основная их функция – обеспечение субклеточных «силовых» усилий, которые, в свою очередь, индуцируются клеточными циклами в системах типа «внешняя»-«внутренняя» клетки. Биогенез эндоспоровых придатков связан с динуклеарной стадией клеточного цикла фирмикут. Придатки формируются на проспоре, обеспечивая взаимодействие «внутренней» клетки (проспоры) с «внешней» (материнской) клеткой. Типичные формы придатков – микротрубочки с наружным диаметром 15-25 нм. Их функции состоят в субклеточной механотрансдукции, участии в процессах клеточного транспорта, системообразования, и энерготрансдукции. Белковые гидролизаты придатков содержат 17 аминокислот. Суммарная доля отдельных групп аминокислот, связанная с низким GC-содержанием ДНК клостридий-придатконосителей, близка с их долей в крайне консервативных цитоскелетных белках – актине и тубулинах. Обособленное ядро и цитоскелет, составляющие клеточное тело эукариот, возникли в ходе единого комбинаторного события. Сценарий первичных прокариотно-эукариотных транзиций следующий. Предковый эндоскелетный фирмикут, инкорпорируя архею посредством “абортного” проспорового ингалфмента, сформировал клеточное тело и клеточную сому протоэукариот. Клостридияльные мембраны, связанные с пируват-метаболизирующими и гидролитическими белками и проспорой, превратились, соответственно, в гидрогеносомы, фагосомы, ядерную оболочку, и эндоплазматический ретикулум. Можно надеяться, что прогнозируемые нами элементы ортологии в геномах эндоскелетных клостридий и амитохондрияльных эукариот, детерминирующие эндоспоровые придатки и другие параспоральные структуры клостридий, а также цитоскелет, получают реальное подтверждение.



## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЦИТОГЕНЕТИКА CARNIVORA

АС Графодатский, ПЛ Перельман, ВА Трифонов, ДВ Юдкин,  
НА Сердюкова, ВР Беклемишева

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

В настоящее время отряд хищных млекопитающих представляется, по-видимому, наилучшей моделью для иллюстрации изучения эволюции генома с помощью сравнительного хромосомного пэинтинга. Отряд хищных довольно широко охвачен такими исследованиями и по числу вовлеченных видов уступает лишь отряду приматов. Пэинтинг-пробы хромосом человека локализованы на хромосомах представителей семейства кошачьих, куньих, медвежьих, собачьих, и ластоногих. Довольно хорошо изучены отношения внутри отряда – в семействах собачьих, медвежьих и куницеобразных и Carnivora в целом, для чего использованы наборы пэинтинг-проб хромосом кошки, домашней собаки, японской енотовидной собаки, большой панды, американской норки, каменной куницы и человека.

Имеющиеся данные в совокупности с данными по сравнительному анализу дифференциально исчерченных хромосом позволили составить детальную картину эволюции геномов хищных млекопитающих. Удалось идентифицировать наиболее консервативные синтенные элементы хромосом в геномах. Реконструирована структура предкового кариотипа хищных (Ancestral Carnivore Karyotype, АСК) для которого характерны следующие ассоциации сегментов хромосом человека -- 4/8/4, 10/12/22, 16/19, 7/16, 20/2, 12/22/18, 19/3/21. Кариотип предка хищных, по-видимому, имел диплоидное число  $2n = 42$ .

## МЕХАНИЗМ ВЗАИМОРЕГУЛЯЦИИ СТРЕСС-СВЯЗАННЫХ ГОРМОНОВ НАСЕКОМЫХ В КОНТРОЛЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ В НОРМАЛЬНЫХ И СТРЕССИРУЮЩИХ УСЛОВИЯХ

Н.Е. Груntenко, Н.А. Ченцова, Е.К. Карпова, Н.В. Адоньева, И.Ю. Раушенбах  
Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Для выяснения механизма взаимодействия стресс-связанных гормонов дрозофилы (гонадотропинов, ювенильного гормона (ЮГ) и 20-гидроксиэкдизона (20Э)) и биогенных аминов (дофамина (ДА) и октопамина (ОА)) в контроле ее репродуктивной функции в нормальных и стрессирующих условиях, мы изучили изменения в системах метаболизма ДА, ОА, 20Э и ЮГ под влиянием измененных уровней каждого из этих гормонов. Уровень ДА был повышен посредством кормления мух его предшественником, L-DOPA, и понижен в результате кормления их ингибитором синтеза ДА, 3-иодотирозином. Влияние повышенного уровня ОА было изучено на мухах, кормленных амином, а пониженного – на нуль-мутантах по гену тирамин-β-гидроксилазы. Повышение уровня 20Э достигалось посредством кормления мух гормоном, а понижение – помещением мутантов *ecdysoneless*<sup>1</sup> в рестриктивную температуру, в которой у них прекращается синтез экдизона. Влияние измененного содержания ЮГ было изучено на мухах линий дикого типа, посредством апплицирования им экзогенного гормона, и на мутантах *apterous*<sup>56f</sup>, характеризующихся резко сниженным уровнем ЮГ. Мы показали, что ДА ингибирует деградацию ЮГ (и, по-видимому, повышает его титр) у молодых самок и стимулирует деградацию (снижает титр ЮГ) у зрелых. В этой регуляции существует обратная связь: повышение титра ЮГ снижает уровень ДА у молодых самок и повышает его у зрелых. ОА ингибирует деградацию ЮГ, тем самым повышая его титр, и у молодых и у половозрелых самок. Мы также обнаружили, что 20Э регулирует содержание ДА у дрозофилы: дозозависимым образом повышает уровень ДА у молодых самок, и снижает его у половозрелых особей. В то же время, повышение уровня ДА у молодых самок приводит не к понижению, а к повышению титра 20Э, что позволяет предположить существование более сложной взаимной регуляции ДА и 20Э, чем механизм обратной связи. Мы показали, что 20Э дозозависимым образом ингибирует деградацию ЮГ как у молодых, так и у половозрелых самок, причем осуществляет это опосредованно через систему метаболизма ДА. Ранее на основании наших результатов изучения оогенеза *D. virilis* в нормальных и стрессирующих условиях, изменяющих титр гонадотропинов (Gruntenko et al., 2003; Rauschenbach et al., 2004) и данных Соллера с соавт. (Soller et al., 1999) о влиянии экзогенных 20Э и ЮГ на оогенез *D. melanogaster*, мы предположили, что происходящее при стрессе накопление зрелых яиц у дрозофилы вызывается повышением титра ЮГ, а деградация части ранних вителлогенических ооцитов – повышением уровня 20Э. Здесь мы приводим данные, подтверждающие это предположение: увеличение титра ЮГ останавливает откладку яиц в нормальных условиях, но не снижает плодовитость самок после ее возобновления, тогда как увеличение титра 20Э не останавливает откладки яиц, но снижает их плодовитость в течение нескольких дней. Таким образом, обнаружены следующие взаимодействия гормонов: (i) ОА регулирует титр ЮГ, изменяя его деградацию; (ii) ДА регулирует титр ЮГ и титр 20Э (опосредованно, через систему метаболизма ЮГ); (iii) ЮГ регулирует уровень ДА и титр 20Э; (iv) 20Э регулирует уровень ДА и титр ЮГ (опосредованно, через систему метаболизма ДА). Сделан вывод о том, что существование у дрозофилы механизма взаиморегуляции стресс-связанных гормонов позволяет сохранять баланс гонадотропинов, crucialный для нормального протекания оогенеза.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 04-04-48273, 06-04-48357, 07-04-00194

## НН-КАСКАД СИГНАЛОВ: ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ И ЭВОЛЮЦИИ.

Гунбин К.В.\*, Афонников Д.А., Омелянчук Л.В., Колчанов Н.А.  
*Институт Цитологии и Генетики СО РАН, пр. Лаврентьева, 10, Новосибирск,  
Россия*

\*- Автор, отвечающий за корреспонденцию: e-mail: [genkyg@bionet.nsc.ru](mailto:genkyg@bionet.nsc.ru)

Важнейшими направлениями теоретических исследований молекулярно-генетических основ морфогенеза являются построение численных моделей морфогенеза и их исследование, а так же анализ молекулярной эволюции генов, ответственных за морфогенез. Математическое моделирование молекулярно-генетических систем вскрывает особенности динамики их функционирования, а исследование параметрической устойчивости этих моделей позволяет оценить отклик системы на изменения кинетических параметров и классифицировать эти параметры по степени отклика. Как правило, исследователей интересуют кинетические параметры, изменения которых приводят к очень большому отклику в функционировании сети («параметры с гипер-откликом»). Гены, которые определяют параметры с гипер-откликом, могут представлять большой биологический интерес, т.к. морфогенетический процесс может оказаться наиболее чувствительным по отношению к нарушению или слабому изменению функционирования этих генов, например, в результате спонтанных мутаций.

В настоящей работе мы проводим теоретическое исследование Нh-каскада передачи сигналов (Lum, Beachy, 2004) с целью сопоставления результатов численного анализа предложенной нами ранее математической модели динамики функционирования этого каскада у беспозвоночных (Gunbin *et al.*, 2007b) и анализа молекулярной эволюции генов, участвующих в работе этого каскада (Gunbin *et al.*, 2007a). Структура генной сети, контролирующей этот каскад, была описана нами ранее (Gunbin *et al.*, 2004). Учитывая структурные различия Нh-каскада передачи сигналов беспозвоночных и позвоночных, мы провели сравнение параметрической устойчивости моделей Нh-каскада беспозвоночных (Gunbin *et al.*, 2007b) и позвоночных (Lai *et al.*, 2004) и идентифицировали набор параметров моделей, малые изменения которых вызывают большой отклик в поведении кинетических кривых, описывающих концентраций веществ, и, таким образом, определили набор генов гипер-отклика Нh-каскада. Анализ молекулярной эволюции генов Нh-каскада позволил выявить гены, которые эволюционировали адаптивно на этапе дивергенции основных групп типов Bilateria (Ecdysozoa, Lophotrochozoa и Deuterostomia), и показал, что этими генами преимущественно являются идентифицированные нами гены гипер-отклика (Gunbin *et al.*, 2007a).

Полученные результаты позволили выдвинуть гипотезу об эволюционной роли генов гипер-отклика в ходе эволюционной перестройки структуры Нh-каскада передачи сигналов, как источников «внутреннего резерва» компенсации радикальных структурных перестроек Нh-каскада передачи сигналов в ходе эволюции Bilateria.

### **Благодарности**

Работа была поддержана РФФИ (гранты № 05-04-49141-а, 05-07-98012-р, 03-04-48506-а).

### **Литература**

1. K.V. Gunbin, D.A. Afonnikov, N.A. Kolchanov (2007a) The evolution of the Hh-signaling pathway genes: a computer-assisted study, *In Silico Biology*, (In press).
2. K.V. Gunbin, L.V. Omelyanchuk, E.A. Ananko (2004). Two gene networks underlying the formation of the anterior-posterior and dorso-ventral wing

imaginal disc compartment boundaries in *Drosophila melanogaster*. Proceedings of the forth international conference on bioinformatics of genome regulation and structure, BGRS'2004. Eds. N. A. Kolchanov *et al.* Institute of Cytology and Genetics Press. **Vol. 2**, P.56-59.

3. K.V. Gunbin, L.V. Omelyanchuk, V.V. Kogai, S.I. Fadeev, N.A. Kolchanov (2007b) Model of the reception of Hedgehog morphogen concentration gradient: comparison with an extended range of experimental data, *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, (In press).

4. K. Lai, M.J. Robertson, D.V. Schaffer (2004). The sonic hedgehog signaling system as a bistable genetic switch. *Biophysical Journal*, **Vol. 86**, № 5, P.2748-2757.

5. L. Lum, P.A. Beachy (2004). The Hedgehog response network: sensors, switches, and routers. *Science*, **Vol. 304**, № 5678, P.1755-1759.

ХАРАКТЕР ДЕПИГМЕНТАЦИИ ВОЛОСЯНОГО ПОКРОВА У СЕРЫХ КРЫС  
ПРИ ОТБОРЕ ПО ПОВЕДЕНИЮ

Гулевич Р.Г., Плюснина И.З., Прасолова Л.А.



## ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИВЕРГЕНЦИЯ ГЕНОМОВ ГОЛАРКТИЧЕСКИХ ВИДОВ РОДА *CHIRONOMUS* В ПАЛЕАРКТИКЕ И НЕАРКТИКЕ.

Гундерина Л.И.<sup>1</sup>, Кикнадзе И.И.<sup>1</sup>, Батлер М. Дж.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск 630090, Россия

<sup>2</sup> Университет Северной Дакоты, Фарго 58 105-55-17, США

Географическая изоляция является одним из важнейших факторов эволюции видов. Она приводит к возникновению генетической дифференциации изолированных частей исходно единой популяции, нарушая поток генов между ними. Сравнение генетической структуры палеарктических и неарктических популяций голарктических видов позволит оценить вклад географической изоляции во внутривидовую генетическую дифференциацию.

Изучение кариотипов и инверсионного полиморфизма голарктических видов рода *Chironomus*: *C. tentans*, *C. plumosus* и *C. entis* в показало разную степень цитогенетической дивергенции этих видов в Палеарктике и Неарктике. Цитогенетические и морфологические различия палеарктических и неарктических популяций *C. tentans* оказались настолько велики, что их разделили на два вида – *C. tentans* в Палеарктике и *C. dilutus* в Неарктике. Цитогенетические различия палеарктических и неарктических популяций *C. plumosus* и *C. entis* не достигали степени межвидовых различий.

В то время как роль географической изоляции в дивергенции цитогенетической структуры голарктических видов рода *Chironomus* подробно исследована, остается неизвестным, какие изменения вносит этот фактор в геномную ДНК. С этой целью изучили особенности дифференциации геномной ДНК *C. tentans*, *C. dilutus*, *C. plumosus* и *C. entis* в географически изолированных популяциях Палеарктики и Неарктики. В качестве маркеров геномной ДНК служили фрагменты ДНК, полученные в полимеразной цепной реакции с участием произвольных праймеров (RAPD-маркеры) (Williams et al., 1990). Степень дивергенции геномной ДНК в популяциях изученных видов количественно описывает мера «генетическое расстояние (GD)», характеризующая долю локусов, различающих сравниваемые виды и популяции, в их объединенном генофонде. GD изменяется в диапазоне от 0 (максимальное сходство) до 1 (максимальное различие).

Геномная ДНК *C. tentans*, *C. dilutus*, *C. plumosus* и *C. entis* в природных популяциях Палеарктики и Неарктики характеризуется высоким уровнем полиморфизма, хотя в неарктических популяциях он несколько ниже, чем в палеарктических.

Среднее генетическое расстояние (GD) между палеарктическими популяциями *C. plumosus* составило 0.211, а между неарктическими популяциями *C. entis* - 0.190. Между палеарктическими и неарктическими популяциями этих видов GD несколько выше, чем между популяциями на каждом из континентов – 0.318 и 0.260, соответственно. Эти оценки не выходят за пределы значений, характеризующих дифференциацию географических популяций внутри вида. Вместе с тем, при генетическом расстоянии между палеарктическими популяциями *C. tentans* - 0.248, совпадающем по величине с аналогичной оценкой у других видов рода *Chironomus*, GD между *C. tentans* (Палеарктика) и *C. dilutus* (Неарктика) достигает 0.600, что в два-три раза выше генетического расстояния между популяциями одного вида.

Межпопуляционные цитогенетические расстояния (GD<sub>c</sub>) в Палеарктике составили у *C. tentans*, *C. plumosus* и *C. entis* – 0.352, 0.272, 0.402, а в Неарктике у *C. dilutus*, *C. plumosus* и *C. entis* – 0.362, 0.210 и 0.400, соответственно. Цитогенетические расстояния между популяциями с разных континентов были выше, чем внутри континента: у *C. plumosus* – 0.628, у *C. entis* – 0.763, однако, не достигали значений, характеризующих

степень цитогенетической дивергенции разных видов, наблюдаемых при сравнении палеарктического *C. tentans* и неарктического *C. dilutus* – 0.889.

Полученные результаты показали, что степень дифференциации палеарктических и неарктических популяций у разных видов хирономид может быть неодинаковой. И цитогенетические и молекулярно-генетические данные свидетельствуют о том, что континентальная изоляция привела к разделению *C. tentans* на два вида, в то время как два других вида - *C. plumosus* и *C. entis* в этих условиях сохранили свою целостность. Одно из объяснений наблюдаемого эффекта может состоять в том, что эти виды колонизировали Североамериканский континент в разное время: *C. tentans* раньше, а *C. plumosus* и *C. entis* позднее. Тогда степень дифференциации палеарктических и неарктических популяций этих видов будет определяться продолжительностью их жизни в условиях географической изоляции. Нельзя исключить и других возможностей, например, большего сходства экологических условий в водоемах Евразии и Северной Америки, в которых обитают *C. plumosus* и *C. entis*, по сравнению с теми, которые заселены *C. tentans*.

Результаты проведенной работы показали, что степень цитогенетической дифференциации изученных популяций и видов существенно выше, чем степень дифференциации их геномной ДНК. Это дает основание полагать, что эволюция линейной организации генома (хромосом) осуществляется быстрее, чем эволюция отдельных генов. Это может свидетельствовать о ведущей роли линейной организации генома, обеспечивающей изменчивость порядков генов в группах сцепления, и создание генетических комбинаций, облегчающих приспособленность вида к разнообразным экологическим условиям, в ходе эволюционного процесса.

## ИСТОРИЧЕСКИЕ И СЕЛЕКТИВНЫЕ ФАКТОРЫ В ФОРМИРОВАНИИ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ФЕРМЕНТНЫХ ЛОКУСОВ У *AEGILOPS TAUSCHII*

Дудников А. Ю.

Институт Цитологии и Генетики, Новосибирск 630090

[dudnikov@bionet.nsc.ru](mailto:dudnikov@bionet.nsc.ru)

*Aegilops tauschii* – однолетний диплоидный злак, геном которого (D) вошёл в состав генома мягкой пшеницы. Этот вид распространён на обширном ареале от Турции до Киргизии, при этом его первичные местообитания остались практически незатронутыми хозяйственной деятельностью человека. *Ae. tauschii* представлен большим числом небольших локальных популяций относящихся к двум подвидам, *tauschii* и *strangulata*. Отмечено, что генетический обмен в природе между этими подвидами – достаточно обычное явление, но, несмотря на это, подвиды *tauschii* и *strangulata* чётко и существенно различаются генетически. Они различаются также и по своим экологическим “предпочтениям”, и это находит отражение в существенных различиях в географической встречаемости подвидов *tauschii* и *strangulata* в соответствии с природно-климатическими условиями.

Уровень генетической дифференциации среди локальных популяций весьма высок, коэффициент  $G_{ST}$  Нея составляет 0.67 и 0.64 для подвидов *tauschii* и *strangulata*, соответственно. Находящиеся в 2-3-х километрах друг от друга локальные популяции одного подвида могут значительно различаться генетически, что отражает низкую миграционную способность вида. Очевидно, что на заселение ареала *Ae. tauschii* должен был затратить порядка  $10^5$  лет.

Редкие аллели встречаются случайным образом по всему ареалу вида, а также безотносительно к подвидовой принадлежности локальных популяций. Это говорит о том, что свой ареал *Ae. tauschii* населяет с древнейших времён, и разделение на подвиды произошло ещё до географической экспансии. У *Ae. tauschii* отмечены случаи независимого возникновения редких аллелей в географически удалённых локальных популяциях (к тому же, относящихся к разным подвидам), а также примеры фиксации редких аллелей по нескольким ферментным локусам в одной локальной популяции. Таким образом, время прошедшее после расселения вида по ареалу достаточно, чтобы происходили аллельные замещения в локальных популяциях; то есть, оно составляет более миллиона лет, так как частоты мутирования ферментных генов имеют величину порядка  $10^{-5} - 10^{-6}$ .

События исторического прошлого, такие как происхождение соседних локальных популяций от одной предковой популяции, генетический обмен между соседними популяциями (в том числе - и принадлежащими к разным подвидам), находят отражение в географически локальных паттернах встречаемости аллелей ферментных локусов. Однако, отмечены также и очень протяженные паттерны, такие как клинальная изменчивость *Cat2* у *Ae. tauschii* ssp. *tauschii*. На востоке ареала ген *Cat2* представлен тремя примерно одинаково обычными аллелями. Частоты встречаемости аллелей *Cat2*<sup>35</sup> и *Cat2*<sup>140</sup> падают к западу, и в западной части ареала встречается исключительно аллель *Cat2*<sup>100</sup>. Такие обширные паттерны у вида с низкой, как у *Ae. tauschii*, миграционной способностью могут существовать, только если они “поддерживаются” естественным отбором. И действительно, как и можно ожидать в случае эффектов естественного отбора, у *Ae. tauschii* ssp. *strangulata* в Иране наблюдается дискордантный характер паттернов

аллельной вариабельности по локусам *Ak*, *Est2*, *Est5*, *Got1* и *Got3*; при этом эти паттерны соответствуют разделению территории на различные природно-климатические зоны.

Также, вряд ли возможно объяснить случайными историческими факторами генетические различия между подвидами *tauschii* и *strangulata*. При наличии генетического обмена, *tauschii* и *strangulata* могли долговременно стабильно существовать как два четко различающихся генетически подвида только при условии, что “промежуточные”, гибридные, варианты элиминируются естественным отбором.

Полученные данные свидетельствуют, что подвиды *tauschii* и *strangulata* представляют собой стохастически-равновесные генетические системы, адаптированные к различным экологическим условиям. Это делает *Ae. tauschii* исключительно удобным объектом для изучения генетических основ адаптивных процессов в популяциях.

## ГОРМОНЫ В ФИЛО- И ОНТОГЕНЕЗЕ

Дыгало Н.Н.

*Институт цитологии и генетики, СО РАН*

Гормональная (эндокринная) регуляция в ее классическом понимании осуществляется лишь у многоклеточных организмов, имеющих полость тела. Однако гуморальная регуляторная связь возможна и между отдельно живущими клетками путем выделения секрета в жидкую среду обитания. Гуморальные системы коммуникации одноклеточных явились основой формирования в эволюции гормональной регуляции сложных организмов. Результаты секвенирования геномов множества видов свидетельствуют о последовательном возникновении в разные периоды эволюции жизни на Земле механизмов трансдукции сигналов, осуществляемых рецепторами четырех основных типов. Три из них локализованы в клеточной мембране: 1 - рецепторы, сопряженные с G-белками (GPCR); 2 – обладающие ферментативной активностью; 3 – регулируемые лигандами ионные каналы, а тип 4 - внутриклеточные рецепторы, осуществляющие свою функцию в ядре клетки (NR).

Особенность сходных по химической природе и структуре сигнальных молекул (гормонов, нейротрансмиттеров, тканевых факторов) у очень далеких в филогенетическом отношении организмов состоит в «смысловой» близости их регуляторных эффектов, позволяющих решать похожие проблемы. Например, биогенные амины влияют на двигательную активность и пищевое поведение простейших, червей, ракообразных и млекопитающих, а стероиды регулируют развитие грибов, растений, насекомых и млекопитающих. Подобные факты рассматриваются, прежде всего, как консерватизм однажды возникшего в эволюции регуляторного эффекта молекулы. Вместе с тем, сигнальная функция стероидов осуществляется у животных рецепторами NR типа, а у растений – рецепторами клеточной мембраны, обладающими ферментативной активностью, что указывает на независимое возникновение сходной по «смыслу» сигнальной функции стероидов в этих филумах. В настоящее время описаны сходные по «смыслу» регуляторные эффекты целого набора сигнальных молекул, осуществляемых каждой из них с участием представителей нескольких типов рецепторов из 4-х перечисленных выше. Эти факты указывают на связь между «сигнальными качествами» молекулы и ее регуляторными эффектами. Анализ вероятных сценариев эволюции стероидов, тиреоидных гормонов и цАМФ свидетельствует, что эти молекулы, как и другие молекулы гуморальной коммуникации, могли получить значение сигналов в ходе процессов, с которыми ассоциировано увеличение их числа в клетке или в ее непосредственной близости. Функция вновь возникших сигнальных молекул направлена на преодоление или использование ситуации, в которой концентрация этих молекул, обозначающих или «кодирующих» для клетки или организма в целом конкретные условия внешней или внутренней среды, повышена (Дыгало, 1993). Важными и экспериментально подкрепляемыми в настоящее время следствиями, вытекающими из этой идеи, являются: 1. Функция сигнальной молекулы не является ее физико-химическим или молекулярным свойством. 2. Функция сигнальной молекулы создается и поддерживается отбором. 3. Функция сигнальной молекулы неслучайна. Она предопределена ситуацией, в которой концентрация этой молекулы повышалась и она приобрела значение сигнала. 4. Регуляторный «смысл» функции сигнальной молекулы не зависит от молекулярной природы рецептора. 5. Функция сигнальной молекулы может изменяться и утрачиваться.

Связь функции сигнальной молекулы с условиями, в которых ее концентрация повышена, проявляется и в онтогенезе. Так, глюкокортикоиды несут информацию развивающемуся организму об условиях среды, в которых ему предстоит жить, и направляют его развитие в необходимое русло (Дыгало, 1993). Эта предсказанная и проанализированная на грызунах ранее неизвестная функция гормона, как было выяснено в дальнейшем, может иметь значение для представителей давно разошедшихся в эволюции видов. Она чрезвычайно важна и для земноводных и для человека, составляя у последнего основу широкого спектра патологий онтогенетического генеза (Barker, 1998; Gluckman et al., 2005). Гормональная регуляция развития вовлечена и в микроэволюционное изменение видов, например, в процесс domestikации, а также и в видообразование, как это происходит у хвостатых земноводных в результате облигатной неотении.

Наконец, эндокринная система является удобным объектом «экспериментальной эволюции», продемонстрировавшей недавно на примере возникновения в эволюции нового гормона тетрапод альдостерона решение ключевой для эволюции сложных многокомпонентных систем проблемы «неснижаемой сложности» (Bridgham et al., 2006).

В целом, уже имеющийся и все возрастающий объем сведений о генах рецепторов, сигнальных молекул, ферментов синтеза таких молекул и их функциях делает плодотворным филогенетически-онтогенетический подход как к объяснению непонятных и прогнозированию ранее неизвестных эффектов сигнальных молекул, имеющих практическое значение, так и для понимания фундаментальных закономерностей биологической эволюции.

Работа поддержана грантами РФФИ 05-04-48252, а также программами РАН и СО РАН.

Дыгало Н.Н. Успехи современной биологии, 1993, 113(2), с. 162-175.

Barker DJP. Mothers, Babies and Health in Later Life. Churchill Livingston, 1998

Bridgham JT, Carroll SM, Thornton JW. Science. 2006 Apr 7;312(5770):97-101.

Gluckman et al., TRENDS in Ecology and Evolution, 2005;20(10)

ЛУЧ СВЕТА В ЛАБИРИНТЕ ЖИЗНИ: ДК И ЕГО УЧЕНИКИ

В.И. Евсиков

*Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск, Россия*

## ВОЗДЕЙСТВИЕ ВЫСОКИХ ТЕМПЕРАТУР НА *DROSOPHILA MELANOGASTER* НАРУШАЕТ МОРФОЛОГИЮ СИМБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ *WOLBACHIA* В КЛЕТКАХ ЯИЧНИКОВ

Жукова М.В., Воронин Д.А., Киселева Е.В.

Институт Цитологии и Генетики СО РАН, Новосибирск

Исследование взаимоотношений бактерий и хозяина в условиях стресса может обеспечить получение дополнительной информации о механизмах симбиоза. Целью настоящей работы являлся сравнительный анализ морфологии эндосимбиотических бактерий рода *Wolbachia* в яичниках *D. melanogaster* (w1118), до и после воздействия на мух повышенных (36<sup>0</sup>C) температур. *Wolbachia* широко распространены среди беспозвоночных и вызывают у них изменение репродуктивных функций, включая цитоплазматическую несовместимость, партеногенез, феминизацию и андроксид. Наши предыдущие электронномикроскопические исследования показали, что симбионты активно взаимодействуют с различными органеллами в клетках яичников дрозофилы.

С помощью молекулярно-биологических методов установлено, что линия *D. melanogaster* (w1118) инфицирована штаммом *Wolbachia* wMelPop. Анализ морфологии различных клеток яичников инфицированных и неинфицированных мух с использованием методов световой микроскопии не выявил существенных отличий до и после теплового воздействия. Оогенез проходил без видимых отклонений от нормы, и яичники имели сходное с контролем строение клеток и ядер. Однако электронномикроскопическое исследование показало, что действие высоких температур вызывает ответную реакцию, как у хозяина, так и у симбионта. После теплового воздействия, в цитоплазме всех клеток яичника появляется большое количество лизосом. Дополнительно, в клетках обнаруживаются скопления электронно-плотных частиц, вероятно, белков, частично потерявших нативную конформацию.

Ультраструктурное исследование показало, что в контрольной (не подвергавшейся тепловому воздействию) и в опытной группе мух бактерии присутствуют в клетках гермария, питающих и фолликулярных клетках вителлария, и в ооцитах, и их распределение по клеткам яичника не изменяется. *Wolbachia* продолжают активно взаимодействовать с митохондриями и эндоплазматическим ретикуломом в клетках яичника. В то же время регистрируются многочисленные дефекты в клеточной оболочке симбионтов, увеличивается плотность бактериального матрикса, возрастает количество бактерий с пузырьковидными выпячиваниями наружных оболочек, а также число дегенерирующих бактерий. Предполагается, что эти изменения могут быть обусловлены, как адаптивными процессами, так и гибелью *Wolbachia* под действием повышенных температур.



## О ПРИЧИНАХ ЛОКУС-СПЕЦИФИЧЕСКОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ В ГЕНЕ *YELLOW DROSOPHILA MELANOGASTER*

Л.П. Захаренко, И.К. Захаров

*Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск,  
Россия*

В период 1982-1991 гг. в популяции Умани *Drosophila melanogaster* наблюдали повышенную концентрацию *yellow-2*-мутаций. Выделенные в этот период  $y^2$ -аллели отличались друг от друга по целому ряду генетических характеристик: по способности и частоте реверсии к нормальному фенотипу, по способности давать каскад фенотипически различающихся производных, по их комплементационным свойствам. Одной из основных характеристик высоконестабильных локуспецифических мутаций, выделенных из природных популяций *Drosophila melanogaster*, является 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* встроен один и тот же дефектный *hobo*-элемент. 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. 3/4  $y^2$ -линий из Умани, ведущих своё происхождение от самок, имели одну и ту же инверсию в регуляторной зоне гена *yellow*, фланкированную *hobo*-последовательностями. Если же  $y^2$ -линия брала своё начало от мутантного самца, то, как правило, в регуляторной зоне гена *yellow* наблюдали делецию вышеупомянутой инверсии или комбинацию других перестроек. Имеющиеся данные позволяют сделать заключение, что в основе повышенной концентрации  $y^2$ -мутаций в популяции *Drosophila melanogaster* Умани лежит инверсионный полиморфизм. Как  $y^2$ -мутанты, так и их фенотипически нормальные производные имели встройку *hobo*-последовательности в одном и том же самом 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, *hobo*-обусловлена 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 1-3 % или/и за счет меньшей жизнеспособности, конкурентоспособности или плодовитости  $y^2$ -мутантов.

ИСТОЧНИКИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ В ПРИРОДНЫХ  
ПОПУЛЯЦИЯХ

И.К. Захаров

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск.*

## МЫШЛЕНИЕ ЖИВОТНЫХ: РАЗВИТИЕ КОНЦЕПЦИИ Л.В. КРУШИНСКОГО В СОВРЕМЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

З. А. Зорина

*Биологический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова*

Л.В. Крушинский внес фундаментальный вклад в изучение ряда аспектов поведения животных. С середины 60-х годов его работы по генетике поведения проводились в тесном контакте с академиком Д.К. Беляевым и рядом сотрудников ИЦиГ, в особенности с лабораторией Л. И. Корочкина. Это сотрудничество было возобновлено в 90-е годы в Москве и активно продолжалось до трагической гибели Л. И. В 70-е годы на базе ИЦиГ М. Н. Сотская провела уникальное исследование влияния доместикиции на рассудочную деятельность хищных млекопитающих. Этот контакт с ИЦиГ основанная Л. В. лаборатория физиологии и генетики поведения поддерживает и по настоящее время.

В докладе будут рассмотрены представления Л. В. Крушинского о физиолого-генетических основах рассудочной деятельности (РД) животных как эволюционной предтече мышления человека. Будет представлена полученная в его исследованиях широкая сравнительная характеристика способности к экстраполяции у представителей всех классов позвоночных, выявленная в них связь с уровнем и спецификой организации мозга. Будет показано, как сформированная на этой основе гипотеза Л. В. о путях эволюции РД и ее вкладе в обеспечение адаптивности поведения подтверждается современными литературными данными, а также исследованиями его лаборатории, проведенными после его кончины (1984). В этих работах получена характеристика ранее не изученных аспектов мышления врановых птиц, таких как способность к обобщению, формированию довербальных понятий, к символизации, к выявлению сходства по аналогии в структуре сложных стимулов, к транзитивному заключению, т. е. практически ко всем наиболее сложным когнитивным функциям, известным к настоящему времени у высших млекопитающих. Полученная благодаря расширенному набору тестов комплексная характеристика РД врановых птиц позволяет заключить, что по ряду признаков они сопоставимы не с хищными млекопитающими, как это считалось ранее, а с приматами, в том числе человекообразными. Это подтверждает гипотезу Л. В. о возможности параллельного формирования и развития РД в процессе эволюции независимых таксонов.

В докладе будут освещены также представления Л.В.Крушинского о роли РД в социальном поведении животных, о связи ее уровня со спецификой организации сообществ. Впервые будут описаны этологические наблюдения Л.В.Крушинского, послужившие основой для разработки методик лабораторных тестов.

Работа поддержана грантами РФФИ № 01-04-290, 04-04-48445, 07-04-01287 и др.

## СИМБИОТИЧЕСКАЯ СИСТЕМА *DROSOPHILA MELANOGASTER-WOLBACHIA*: ГЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ В ПОПУЛЯЦИЯХ СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ

Илинский Ю.Ю., Захаров И.К.

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск,  
630090, Россия

Понимание эволюционных процессов подразумевает представление вида в многообразии взаимоотношений биотической и абиотической природы. Симбиотические взаимоотношения, в зависимости от 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*. Передача бактерии в ряду поколений осуществляется через цитоплазму матери к потомству, трансовариально. В зависимости от вида-хозяина и штамма бактерии уровни их взаимоотношения могут обнаруживать характеристики паразитизма, комменсализма и мутуализма. Паразитизм заключается в явлениях репродуктивных аномалий, индуцируемой бактерией у вида хозяина. К их числу относят цитоплазматическую несовместимость, партеногенез, феминизацию генетических самцов и андроцидоз. Эти явления, также как и уровень их проявления, видо- и штаммо- специфичны. Так, например, для рода *Drosophila*, для разных видов группы *melanogaster* описана различная степень цитоплазматической несовместимости.

До сих пор неясны молекулярные механизмы репродуктивных аномалий и мутуалистичных эффектов, вызываемой бактерией. Зачастую не удается объяснить известными механизмами поддержание бактерии в популяциях для многих видов (включая *D. melanogaster*). Одной из наиболее удобных систем исследования феноменологии биологии *Wolbachia* является симбиотическая система *Drosophila melanogaster-Wolbachia*, главным преимуществом которой является генетическая изученность хозяина.

На основе молекулярных данных для *Wolbachia*, инфицирующих *D. melanogaster*, была установлена монофилитичность её происхождения. В 2005 г. был предложен метод разделения единственного известного для популяций *D. melanogaster* штамма – wMel, на пять генотипов *Wolbachia*, используя в качестве индикаторов 5 полиморфных маркеров: встроек транспозона *IS5* в два локуса, различия в кратности двух минисателлитных мотивов и наличие/отсутствие одной протяженной инверсии.

Нам удалось показать широкую распространенность 3-х 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. 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.

На основе анализа нуклеотидной последовательности митохондриальных генов цитохромоксидазы первой субъединицы С и АТФазы шестой субъединицы

*D. melanogaster* нам впервые удалось установить сопряженность наследования её митохондриального генома и трёх генотипов *Wolbachia*. Этот факт открывает новые возможности в разработке представлений эволюции митохондриального генома *D. melanogaster* в частности и для *Artropoda* в целом.

Настоящая работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-48838 с использованием ресурсов ЦКП «Секвенирование ДНК» СО РАН (г. Новосибирск, <http://sequest.niboch.nsc.ru>).

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНОЙ И РЕГУЛЯТОРНОЙ ЧАСТЕЙ ЛОКУСА *AGOUTI* У КРЫС-ПАСЮКОВ (*Rattus norvegicus*), СЕЛЕКЦИОНИРУЕМЫХ НА АГРЕССИВНОЕ ПОВЕДЕНИЕ

Ильина О.В.

Институт цитологии и генетики СО РАН

Процесс доместикации сопровождается не только значительным изменением поведения, но и возникновением целого спектра характерных морфологических и физиологических особенностей. Домашним животным присуще огромное разнообразие форм окраски, не наблюдаемое в природе. Изменения окраски наблюдались в экспериментальных популяциях лисиц, американской норки и серой крысы, селекционируемых на контрастный тип поведения (ручные и агрессивные). В частности, ряд данных указывает на связь признака черной окраски с агрессивным поведением.

Так, в популяции агрессивных крыс 25-50 поколений селекции зафиксирована высокая частота появления животных с черной окраской шерсти, в то время как в ручной популяции этот признак не возникал ни разу. Схема построения эксперимента позволяет предполагать, что появление мутации связано с отбором на поведение, а не является эффектом основателя.

Тип наследования признака черной окраски (рецессивное не сцепленное с полом) мог указывать на мутацию *nonagouti* в локусе *Agouti*, описанную в литературе для линейных черных крыс. Одной из целей данной работы было изучение молекулярной природы данной мутации.

Было показано, что у черных животных во втором экзоне гена *Agouti* присутствует делеция длиной 19 п.н., идентичная мутации *nonagouti* линейных крыс. Кроме того, у черных крыс была обнаружена точечная мутация (замена G→A) в сайте сплайсинга, приводящая к нарушению экспрессии гена. По данным RT-PCR, доля полноразмерной мРНК у черных крыс составляет только 30% от таковой у крыс с окраской агути (дикого типа).

Возникновение признака черной окраски в популяции агрессивных крыс указывает на возможную связь отбора по поведению с локусом *Agouti*. Продукт гена *Agouti* играет ключевую роль в регуляции синтеза пигментов, в то же время он может оказывать определенное влияние на функционирование ЦНС, в связи с чем локус *Agouti* представляет особый интерес в аспекте влияния отбора по поведению на изменения окраски.

Одним из механизмов действия отбора на экспрессию генов являются эпигенетические модификации регуляторной зоны. Целью дальнейшей работы было изучение структуры регуляторной области гена *Agouti*, которая у крыс практически не изучена. Впервые удалось установить явление альтернативного сплайсинга в 5'-области гена. Были выявлены и частично секвенированы транскрипты, содержащие некодирующие экзоны, гомологичные тканеспецифичным экзонам 1A и 1C мыши. В настоящее время ведется работа по исследованию тканеспецифичности этих транскриптов и влиянию отбора по поведению на их экспрессию.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 05-04-48378).

## ЭВОЛЮЦИЯ МЕДОНОСНОЙ ПЧЕЛЫ *APIS MELLIFERA* L.

Р.А.Ильясов, А.В.Поскряков, А.Г.Николенко

Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,  
450054, Россия, республика Башкортостан, г. Уфа, Пр. Октября, 71, ИБГ.

\*e-mail: [apismell@hotmail.com](mailto:apismell@hotmail.com),

*Apis mellifera* имеет необычайно огромный естественный ареал распространения, который простирается от юга Скандинавского полуострова на севере до мыса Доброй Надежды на юге; от Дакара на западе до Алтая, Маскада и западных границ Китая на востоке (Ruttner et al., 1978; Sheppard, Meixner, 2003). Ранее с использованием мультивариантного анализа морфометрических признаков было определено существование 25 подвидов пчел (Ruttner, 1992). Современная номенклатура, основанная на молекулярных данных, подтверждает предыдущие результаты, но с некоторой поправкой на состав подвидов.

Как выяснилось, для получения окончательной филогенетической структуры и определения структуры эволюционной ветви М, в частности статуса подвида *A.m.mellifera*, недоставало нескольких образцов из уже ранее известных чистых линий на Урале. Поэтому для филогенетического анализа были использованы пчелы подвида *A.m.mellifera* из бурзянской и татышлинской популяций республики Башкортостан (DQ181611-DQ181622) и вишерской и южно-прикамской популяций Пермского края (DQ361088-DQ361090), которые были ранее выделены нами на основе изучения полиморфизма межгенного локуса COI-COII мтДНК (Ильясов с соавт., 2006). Также были использованы пчелы из украинской популяции с пасеки под Киевом, любезно предоставленные А.Д.Комиссаром. Для сравнения были использованы нуклеотидные последовательности фрагмента гена ND2 мтДНК других подвидов *A.mellifera*. Для укоренения филогенетического построения были использованы последовательности пчел другого вида - *Apis cerana* и другого рода - *Mellipona bicolor*.

На основе сравнения нуклеотидных последовательностей была построена дендрограмма с использованием программы MEGA 3.1 и метода кластеризации ближайшего соседа и медианная сеть (Bandelt, Dress, 1992; Makarenkov, Legendre, 2004) с использованием программы NETWORK. В качестве референсной была использована нуклеотидная последовательность фрагмента ND2 мтДНК подвида *A.m.anatoliaca*. На дендрограмме и медианной сети наблюдалось разделение на четыре группы, названные эволюционными ветвями А, О, М и С.

Эволюционная ветвь А объединила в основном представителей африканских подвидов пчел. Она подразделялась на две группы, одна из которых объединила большинство африканских подвидов пчел к югу от Сахары и африканизированных пчел из Бразилии. Другая группа объединила северо-африканские, а также несколько средиземноморских подвидов, что можно объяснить гибридизацией пчел Сицилии. Кроме того, в этой эволюционной ветви выделяется еще одна небольшая группа африканских пчел, объединяющая представителей подвидов из Кении и Сенегала.

Эволюционная ветвь О объединила представителей подвидов *A.m.meda* и *A.m.syriaca* из Сирии и *A.m.lamarckii* из Египта. М.С.Arias, W.S.Sheppard (1996), P.Franck et al. (2000) в своих работах также отнесли подвид *A.m.lamarckii* к эволюционной ветви О, тогда как ранее F.Ruttner et al. (1988) относил к эволюционной ветви А.

Эволюционная ветвь М состояла в основном из представителей *A.m.mellifera* уральских и европейских популяций из Швейцарии, Франции, Испании и Норвегии. Однако в эту группу также вошли по два представителя подвидов *A.m.sicula* с Сицилии и

*A.m.ligustica* из Италии, что может быть объяснено их гибридизацией с *A.m.mellifera*. По нашим данным *A.m.mellifera* является единственным представителем эволюционной ветви М..

Эволюционная ветвь С представлена наиболее многочисленно по числу подвидов и объединяла подвиды пчел Средиземноморья, Ближнего Востока и Кавказа. Здесь наиболее выделялась огромная центральная группа, которая, возможно, является точкой экспансии подвидов.

Использование в сравнении последовательностей фрагмента гена ND2 мтДНК пчел из рода *Mellipona*, который очень рано дивергировал от предков рода *Apis*, позволило заключить, что пчелы видов *Apis mellifera* и *Apis cerana* являются по отношению сестринскими видами.

Путем сравнения нуклеотидных последовательностей фрагмента гена ND2 мтДНК всех образцов пчел с использованием программы DNASTAR были рассчитаны проценты различий между *Mellipona bicolor* и каждым из видов рода *Apis* – *A.mellifera* и *A.cerana*, которые были равны 22,18% и 23,02%, соответственно. Между *A.mellifera* и *A.cerana* процент различий был равен 15,54%. DeSalle et al. (1987) в своей работе показали для *Drosophila*, что различия нуклеотидной последовательности мтДНК в 2% соответствует времени дивергенции в 1 миллион лет, что было использовано применительно ко времени дивергенции пчел М.С.Аrias, W.S.Sheppard (1996, 2005). Учитывая данную скорость дивергенции мы рассчитали время дивергенции, которое между *Mellipona bicolor* и *A.mellifera* равно 11,09 млн. лет, между *Mellipona bicolor* и *A.cerana* равно 11,5 млн.лет, а между *A.mellifera* и *A.cerana* равна 7,77 млн. лет. Виды *A.mellifera* и *A.cerana* дивергировали от *Mellipona bicolor* в среднем 11,3 млн. лет назад. Виды *A.mellifera* и *A.cerana*, возможно, дивергировали от общего предка в среднем 3,89 млн. лет назад, где *A.cerana* на 0,42 млн. лет раньше отделилась от общего предка, следовательно *A.mellifera* имеет возраст 3,47 млн. лет, а *A.cerana* – 4,31 млн. лет.

Таким образом, проведенные нами исследования показали высокую степень генетического родства уральских и западноевропейских популяций *A.m.mellifera* - единственных представителей эволюционной ветви М. Показано, что предковой формой вида *Apis mellifera* L. могут являться пчелы эволюционной ветви С. Результат анализа украинских пчел, подтвердил их принадлежность к подвиду *A.m.macedonica*. Пчелы *A.cerana* и *A.mellifera* по нашим данным являются сестринскими видами по отношению друг к другу.



## РЕОРГАНИЗАЦИЯ КАРИОТИПА, ТАЙМИНГ ЭМБРИОГЕНЕЗА И ЭВОЛЮЦИЯ

Исакова Г. К.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090, Россия*

Наши цитогенетические исследования активности эмбрионального генома на стадии облигатной эмбриональной диапаузы (задержанной имплантации) у нескольких видов животных семейства Mustelidae показали, что явление задержанной имплантации состоит не только в задержке имплантации, но и в изменении хронологии (тайминга) всех событий эмбриогенеза. Исходя из представления о том, что изменение в тайминге эмбриогенеза лежит в основе всех эволюционных преобразований, существование обязательного периода диапаузы в эмбриогенезе отдельных видов животных в пределах разных таксономических групп следует рассматривать как признак пребывания этих видов в процессе эволюционной дивергенции. Облигатная диапауза является новым видовым признаком по сравнению с видами животных с обычным течением эмбриогенеза; следовательно, её возникновение должно быть связано с изменением в ДНК животного предкового вида. Таким изменением может быть перестройка в его кариотипе. Известно, что доминирующим механизмом эволюционной реорганизации кариотипа у млекопитающих, и в том числе в семействе Mustelidae, является Робертсоновская транслокация. Известно также, что эта перестройка ведет к изменению в локализации, количестве и свойствах гетерохроматина, что может вызвать, в свою очередь, изменение в экспрессии генов в пределах всего генома. Если в перестройку вовлечутся гены (или системы генов), контролирующие тайминг эмбриогенеза, то изменится программа их экспрессии и возникнет новый наследуемый тайминг развития эмбрионов. Перестройка в кариотипе и гетерохрония в эмбриогенезе вызовут повышение генетического и морфологического разнообразия среди эмбрионов, а естественный отбор, действующий в эмбриональном и постнатальном периодах, приведёт к возникновению субпопуляции особей, имеющих адаптивное преимущество в новых условиях внешней среды, т.е. к внутривидовой дивергенции. Таким образом, эволюционный процесс может развиваться по следующему сценарию: перестройка в кариотипе – изменение в тайминге эмбриогенеза – повышение генетического и морфологического разнообразия в потомстве – естественный отбор – внутривидовая дивергенция – видообразование. Причинными факторами этого пути эволюции, следует полагать, могут быть также генные мутации и направленная селекция, ведущие к изменению в структурной и функциональной организации генома. Пути влияния реорганизации генома на экспрессию генов, контролирующих тайминг эмбриогенеза, должны быть совершенно разными у разных видов животных из-за различий в организации их кариотипов и геномов. Поэтому реорганизация генома, затрагивающая генетический контроль тайминга эмбриогенеза, может быть механизмом, лежащим в основе возникновения того огромного разнообразия в характере эмбриональной диапаузы и в физиологии репродукции, которое существует в природе.

## ОСОБЕННОСТИ РЕГУЛЯЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ГИАЛУРОНИДАЗЫ 1 И 2 ТИПОВ В ПОЧКЕ КРЫС ВИСТАР И КРЫС БРАТТЛБОРО С НАСЛЕДСТВЕННЫМ ДЕФЕКТОМ СИНТЕЗА ВАЗОПРЕССИНА.

Н.О. Кабилова, Иванова Л.Н.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Главная роль в регуляции концентрирующей функции почек принадлежит нейрогипофизарному антидиуретическому гормону (АДГ) или вазопрессину. Наименее ясным в механизме действия АДГ остается участие внеклеточного матрикса, основным компонентом которого является гиалуроновая кислота (гиалуронан, ГК). ГК в высокополимерном состоянии формирует гель с высоким сопротивлением току жидкости. Основную роль в деградации ГК в соматических тканях млекопитающих играют гиалуронидаза 1 типа (Гиал 1, лизосомальный фермент) и гиалуронидаза 2 типа (Гиал 2, большая часть которой фиксированна на плазматической мембране клеток путем гликозил-фосфатидилинозитольной связи) (Frost et al., 1997; Stern, 2004). Гиалуронидаза 2 типа функционирует внеклеточно, гидролизуя ГК с преимущественным образованием крупных остатков порядка 20-50 кДа, которые интернализуются в клетку и гидролизуются далее гиалуронидазой 1 типа до тетрасахаридов (Czoka et al., 2001; Lependinger et al., 2001; Stern, 2003, 2004).

В настоящей работе исследовали методом полуколичественного РТ-ПЦР экспрессию генов гиалуронидаз 1 и 2 типа у крыс Браттлборо и Вистар в условиях дегидратации, гидратации, при введении агониста вазопрессина (dDAVP), а также при введении кортизола. Было показано, что гены Гиал 1 и 2 экспрессируются в коре, мозговой зоне и сосочке почки крыс. У крыс Вистар наиболее высокий уровень экспрессии Гиал 1 наблюдался в мозговой и сосочковой зонах почки. У крыс Браттлборо в контрольной группе существенных различий в экспрессии Гиал-1 в исследуемых зонах почки не обнаружено. Введение dDAVP вызывало повышение уровня экспрессии Гиал-1 в мозговой зоне почки как крыс Вистар, так и крыс Браттлборо.

Принципиальных различий уровня экспрессии гена Гиал 2 в контрольных условиях эксперимента у крыс Вистар в исследуемых зонах почки не обнаружено. При дегидратации и введении dDAVP наблюдается повышение экспрессии данного гена в зоне мозгового вещества почки. Экспрессия гена Гиал 2 у крыс Браттлборо в контрольных условиях была снижена в мозговой зоне по сравнению с корковой и сосочковой зонами почки. У крыс Браттлборо отмечается увеличение экспрессии Гиал 2 при введении dDAVP, наиболее ярко выраженное в области мозгового вещества почки. При этом дегидратация также оказывала стимулирующий эффект на экспрессию Гиал 2 в мозговой зоне почки, что, вероятно, может быть связано со стрессорным воздействием водной депривации на крыс Браттлборо. Для подтверждения этого предположения были проведены дополнительные эксперименты с введением кортизола крысам Браттлборо. Было показано, что введение кортизола вызывало увеличение уровня экспрессии Гиал 2 в мозговой зоне почек крыс Браттлборо, в то время как в сосочке почки экспрессия снижалась. Уровень экспрессии Гиал 1 при введении кортизола в корковой и мозговой зонах почки существенно не изменялся, в сосочке почки происходило снижение экспрессии Гиал 1.

Таким образом, было показано, что гены Гиал 1 и 2 экспрессируются независимо друг от друга и активность экспрессии зависит от уровня вазопрессина в

крови. Механизмы действия кортизола на экспрессию генов Гиал 1 и 2 остаются невыясненными и требуют дополнительного исследования.

## ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ ИЗБЫТОЧНОЙ ДНК В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ СОМАТИЧЕСКИХ НЕЛИМФОИДНЫХ КЛЕТОК

О.В.Кайряк, Н.Ю. Лисовская, В.С. Дорошкевич  
*Донецкий областной противоопухолевый центр, Донецк, Украина*

### ВВЕДЕНИЕ

Проблема избыточной, эгоистичной, «мусорной» ДНК является одной из интригующих проблем современной биологической науки. Существует не менее полутора десятков гипотез о биологической роли избыточной ДНК. Одним из первых было предположение Серебровского А.С.(1938) о механизме изменчивости. Автор считал, что дивергенция генов основана на принципе утери дуплетными генами общих с гомологом функций. [2]. Другая точка зрения на физиологический смысл наличия в клетке большого количества избыточной ДНК представлен [6]. Исследователи предполагают, что наличие нетранскрибируемой ДНК резко снижает риск мутаций в последовательностях структурных генов. Любопытный генетический феномен, в котором ведущую роль играет избыточная ДНК, наблюдается у циклопов вида *Colensis* и аскарид. Диминуция хроматина представляет собой запрограммированную элиминацию части генетического материала из генома соматических клеток. При этом у циклопов в 3-7 делениях дробления элиминируется от 10 до 94% нуклеотидных последовательностей генома germ-line [1]. Авторами показано, что избыточная ДНК не является балластом для клетки, своего рода «клеточным аттавизмом», а играет важную роль в защите клетки от неблагоприятного воздействия экзогенных мутагенов. У человека существует явление, подобное диминуции хроматина у *C. Colensis*. Это- спонтанный выброс ДНК лимфоцитами человека. В системе *in vitro* данный феномен впервые описан Р.Анкер[5]. Авторами показано, что живые лимфоциты человека при инкубации в культуральной среде теряют от 3 до 10,1% клеточной ДНК. По мнению исследователей, появление экстрацеллюлярной ДНК не связано с гибелью лимфоцитов.

Целью данной работы явилось исследование роли «сброса» ДНК моноклеарами при проведении химиотерапии онкологическим больным в зависимости от эффекта проводимого лечения.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 65 больных злокачественными опухолями женской репродуктивной системы III-IV стадий, из них 41 -раком молочной железы ( $T_{3-4}N_{2-3}M_{0-1}$ ), 13 - раком яичников ( $T_3N_{0-1}M_{0-1}$ ), 11-раком шейки матки ( $T_3N_{1-2}M_{0-1}$ ). В зависимости от продолжительности жизни ретроспективно больные разделены на две группы. В первую группу вошли больные с благоприятным течением заболевания, с длительностью безрецидивного периода не менее 1,5года, вторую - лица, умершие в течение 1,5 года от начала заболевания. Всем больным проводили эндолимфатическую химиотерапию по общепринятым схемам в средней курсовой дозе циклофосфана-4г, метотрексата-100мг, фторурацила-4-8г, цисплатина-100-150 мг по методике, разработанной в Донецком противоопухолевом центре. Кровь для исследования забирали из локтевой вены натощак до начала и в конце курса химиотерапии. Сыворотку и лейкоциты выделяли по стандартным методикам. Содержание нуклеиновых кислот определяли спектрофотометрическим методом по Цаневу-Маркову [3]. В сравниваемых группах определяли однородность, значения средних величин, ошибку средних. Достоверность различий между группами оценивали посредством t-критерия Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе показателей содержания нуклеиновых кислот в лейкоцитах и сыворотке

крови 65 больных новообразованиями женской репродуктивной системы были получены довольно вариабельные результаты. С целью нивелирования фактора исходного разброса данных нами предложена производная величина, определяемая как разность между уровнем показателя до и после проведения химиотерапии в сравниваемых группах. Так, у больных первой группы зарегистрировано отчетливое снижение содержания двунитевых НК в лейкоцитах периферической крови (разность между 1 и 2 равна  $137+74$ ), в то время как у больных второй группы данный показатель растет (разность между 3 и 4 со знаком  $-25+39$ ). Аналогичная тенденция прослеживается и при сопоставлении концентрации однопонитевых НК в лейкоцитах периферической крови: снижение показателя у больных первой группы (разность между 1 и 2 равна  $76+27$ ), тогда как у больных второй группы регистрируется рост параметра (разность между 3 и 4 со знаком  $-278+117$ ). Исходное количество двунитевых НК в сыворотке крови в обеих группах практически идентично, значение показателя снижается после проведения курса химиотерапии в обеих группах на сопоставимую величину:  $46+16$  в первой группе и  $43+35$  во второй. Противоположные тенденции в группах наблюдаются при анализе концентрации однопонитевых НК в сыворотке крови больных. У лиц первой группы регистрируется значительный рост показателя (разность между 1 и 2  $-291+129$ ), в то время как во второй группе значение параметра снижается (разность между 3 и 4  $242+220$ ). Таким образом, в результате проведенной эндолимфатической химиотерапии при благоприятном варианте течения заболевания нами зарегистрировано снижение количества НК в лейкоцитах периферической крови и рост концентрации однопонитевых НК в сыворотке. Абсолютно противоположная тенденция наблюдается у больных с неблагоприятным вариантом течения заболевания - рост количества НК в лейкоцитах периферической крови и снижение концентрации однопонитевых НК в сыворотке.

Полученные результаты на первый взгляд кажутся парадоксальными либо содержащими артефакты. Действительно, на протяжении ряда лет количество ДНК в лимфоцитах (двойной набор хромосом) служило стандартом для определения анеу- и полиплоидии тестируемых клеточных линий. Тем не менее, попытаемся разобраться в полученных результатах. Согласно классическому определению, целью и смыслом проведения химиотерапии является эрадикация опухолевых клеток, однако в клинике ни один больной не был вылечен от рака с помощью только химиотерапии по стандартным протоколам. Возможен и другой механизм воздействия химиопрепаратов. Снижение количества ДНК в лейкоцитах при благоприятном течении заболевания благодаря спонтанному выбросу либо апоптозу моно- и полинуклеаров ведет к росту апоптотических либо деминуционных телец в плазме крови. Впоследствии эти тельца фагоцитируются клетками, обладающими фагоцитарной активностью, в том числе и опухолевыми. Если предположить, что подавляющее большинство моно- и полинуклеаров содержат нормальную, неопухолевую ДНК, то фагоцитоз этих апоптотических телец опухолевыми клетками является естественным, эволюционно сохраненным вариантом генной терапии - трансфекцией неопластических клеток ДНК нормальной структуры. Возможно, именно данный аспект воздействия химиопрепаратов ведет если не к нормализации, то к снижению злокачественного потенциала опухолевой клетки, что согласуется с полученными клиническими результатами и данными литературы [4].

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Акифьев А.П., Гришанин А.К., Дегтярев С.В. Диминуция хроматина – ключевой процесс для объяснения парадокса размера генома эукариот и некоторых механизмов генетической изоляции // Генетика.-2002.- Т.38.-.35.-С.595-606.
2. Хесин Р.Б. Непостоянство генома.-Москва.-«Наука».-1985.- 472С.
3. Цанев Р.Г., Марков Г.Г. К вопросу о количественном спектрофотометрическом определении нуклеиновой кислоты //Биохимия.-1960.-№ 1.-С 151-159.
4. Якубов Л.Я., Петрова Н.А., Попова Н.А., Семенов Д.В. и др. Роль экстраклеточной ДНК в поддержании постоянства и изменчивости клеточных геномов //Доклады академии

наук.-2002.-Т.382.-№3.-С.406-410.

5. Anker P., Stroun M. et al. Spontaneous Release of DNA by Human Blood Lymphocytes as Shown in an *in vitro* System // Cancer Research.-1975.-V.35.-P. 2375-2382.

6. Hsu T.C. A possible function of constitutive heterochromatin: the bodyguard hypothesis // Genetics.-1975.-V.79.- P.137-150.

## ЭВОЛЮЦИЯ ЛИНЕЙНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ХРОМОСОМ В РОДЕ *CHIRONOMUS*.

Кикнадзе И.И.<sup>1</sup>, Гундерина Л.И.<sup>1</sup>, Батлер М. Дж.<sup>2</sup>, Вюлкер В.Г.<sup>3</sup>, Мартин Дж.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> - Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск 630090, Россия

<sup>2</sup> - Университет Северной Дакоты, Фарго 58 105-55-17, США

<sup>3</sup> - Университет Фрайбурга, Фрайбург 79 104, Германия

<sup>4</sup> - Университет Мельбурна, Мельбурн, Виктория, 3010, Австралия

Высокий уровень инверсионного полиморфизма и соответственно наличие большого числа инверсионных последовательностей дисков политемных хромосом в кариофондах видов рода *Chironomus* позволяют проводить реконструкцию цитогенетической эволюции рода и оценить роль структурных реорганизаций генома в дивергенции популяций и видов.

Инверсионные последовательности дисков политемных хромосом были использованы как цитогенетические маркеры изменения порядка генов в геноме в процессе дивергенции популяций и видов рода *Chironomus*. Нами были исследованы последовательности в кариофондах 87 видов на 4-х континентах и 4-х зоогеографических зонах: Северной Евразии (Палеарктика), Северной Америки (Неарктика), Австралии (Австралийская зона), Африки (Эфиопская зона). Кроме того, были привлечены литературные данные о последовательностях дисков в Южной Америке (Неотропическая зона) и Индии (Ориентальная зона).

Такой глобальный анализ географического распределения последовательностей дисков позволил выявить группу последовательностей, распространенных на нескольких континентах (базовые последовательности), и группу эндемичных последовательностей, свойственных каждому континенту (континентспецифичные последовательности). Среди базовых последовательностей были обнаружены последовательности, встречающиеся на двух, трех, четырех и пяти континентах, которые можно рассматривать как космополитные последовательности. Космополитные инверсионные последовательности были известны у *D. melanogaster*, но не были ранее обнаружены у видов *Chironomus*.

Базовые последовательности оказались наиболее важными для реконструкции дивергенции геномов в ходе эволюции. Предполагается, что они близки к исходным примитивным последовательностям, существовавшим на древних суперконтинентах, а континентспецифические последовательности сформировались позднее, уже после разделения континентов.

Среди базовых последовательностей у *Chironomus* преобладают последовательности со стандартным порядком дисков или очень близкие к ним последовательности, отличающиеся от стандарта всего одной - двумя инверсиями. Несколько отличается ситуация в плече А, где наиболее распространенной является базовая космополитная последовательность heab'A, отличающаяся от стандарта тремя инверсиями, а стандартная последовательность является более редкой. По-видимому, последовательность heab'A оказалась более благоприятной на разных континентах. Можно полагать, что последовательности, распространенные на наибольшем числе континентов и близкие к стандарту, могли сохраниться в кариофонде рода со времени существования суперконтинента Пангея и их можно рассматривать как наиболее примитивные.

Важно обратить внимание на то, что в современных условиях кариофонды популяций одного и того же вида, обитающего на разных континентах, имеют континент-специфический спектр последовательностей дисков, формирующийся за счет сочетания

континентспецифических и космополитных базовых последовательностей. Это свидетельствует о том, что в разных условиях существования в популяциях оказываются необходимыми разные порядки генов. Подобное внутривидовое разнообразие линейной организации генома является одним из главных факторов поддержания эволюционной стабильности видов, обитающих в резко различающихся экологических условиях.

Среди базовых последовательностей дисков, обнаруженных в кариофонде рода, в настоящее время наиболее часто встречаются палеарктические последовательности. Отчасти это может быть связано с тем, что палеарктические виды хирономид цитогенетически изучены более полно, чем виды из других зоогеографических зон и континентов. Однако столь сильное преобладание палеарктических последовательностей может свидетельствовать также о том, что Евразия и, прежде всего Сибирь, оказалась наиболее благоприятным регионом для сохранения этих порядков генов. Следует учесть при этом, что Сибирь рассматривается как центр активного видообразования хирономид (Кикнадзе и др., 1991; Wuelker, 1996). Многие из палеарктических последовательностей дисков явились основой для возникновения неарктических последовательностей (Kiknadze et al., 1996, 1998, 2001; Андреева, 1999; Голыгина, 1999, Butler et al., 2000).

Сравнение всех известных к настоящему времени последовательностей дисков в кариофонде рода *Chironomus* позволило установить, что геномы наиболее дивергировавших видов различаются более чем 90 инверсионными разрывами, приводящими к изменению их линейной структуры. Размеры консервативных участков генома в таких случаях составляют порядка 10 дисков.



## МЕХАНИЗМЫ СБОРКИ ЯДЕРНОЙ ОБОЛОЧКИ И ЯДЕРНЫХ ПОР В МИТОЗЕ И ИНТЕРФАЗЕ

Е.В. Киселева<sup>1</sup>, К.Н. Морозова<sup>1</sup>, Н.В. Губанова<sup>1</sup>, Е.А. Онищенко<sup>2</sup>, М.В. Голдберг<sup>3</sup>, Т.Д. Аллен<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии и Генетики СО РАН, <sup>2</sup>Содерсторнский Университетский колледж, Стокгольм, Швеция, <sup>3</sup>Институт Раковых Исследований им.

Паттерсона, Манчестер, Англия, Дурхамский Университет, Дурхам, Англия

Электронная почта: [elka@bionet.nsc.ru](mailto:elka@bionet.nsc.ru).

Сборка ядерной оболочки в делящемся и неделящемся растущем ядре и регуляция этого процесса, относятся к наиболее актуальным проблемам современной биологии. Для исследования механизмов этого процесса нами были использованы просвечивающая и высокоразрешающая сканирующая электронная микроскопия, иммуногистохимия и морфометрический анализ. Объектами исследования являлись ранние эмбрионы дрозофилы (открытый митоз), почкующиеся дрожжи (закрытый митоз) и растущие ооциты амфибий (растущие неделящиеся клетки). Использовались различные моно- и поли-клональные антитела к белкам эндоплазматического ретикулума, ядерной оболочки и ядерных пор, а также к некоторым белкам ядерного матрикса.

Проведенные исследования показали, что в сборке ядерной оболочки делящихся и растущих неделящихся ядер у низших и высших эукариот, принимают участие различные компоненты эндоплазматического ретикулума (ЭПР). Они служат источником мембран для построения новой ядерной оболочки или ее новых фрагментов. Впервые установлено, что сплавление мембран ЭПР между собой и с наружной мембраной ядра обеспечивается специфическими белками ЭПР - ретикулонами, стабилизирующими изгиб мембран в области сплавления. Получены 3-х мерные изображения последовательных этапов формирования наружной мембраны ядра и различных компонентов ядерных пор на стадии телофазы митоза в ранних эмбрионах дрозофилы. Показано, что процесс сборки/разборки ядерной оболочки в открытом митозе регулируется динамическим равновесием между активностью cdk1 и фосфатаз, и происходит с участием малой ГТФ-азы Ran. Исследование формирования новых фрагментов ядерной оболочки при закрытом митозе у почкующихся дрожжей показало, что этот процесс начинается со сплавления пузырьков ЭПР с наружной мембраной ядра. Далее эти участки уплощаются, и в них наблюдается асинхронное формирование сначала промежуточных, а затем зрелых ядерных пор. Эти наблюдения полностью совпадают с теми, что регистрируются в ядерной оболочке растущих ооцитов амфибий со стороны цитоплазмы.

При изучении сборки новых фрагментов ядерной оболочки со стороны ядра ооцита амфибий, впервые обнаружено появление пузырьковидных мембран, связанных с-basket структурами ядерных пор. Продемонстрированы последовательные стадии уплощения этих мембран и сборки внутриядерных компонентов поровых комплексов в таких участках. Аналогичные пузырьковидные выпячивания внутренней мембраны наблюдались и в интерфазных ядрах синцитиальных эмбрионов дрозофилы. Предполагается, что рост ядерной оболочки в растущих неделящихся и в интерфазных ядрах эукариот происходит за счет сплавления мембран ЭПР с наружной мембраной ядра и последующего частичного перемещения избытка мембран через ядерные поры внутрь ядра. Далее происходит уплощение пузырьковидных мембран и изменение их состава в процессе превращения в зрелые фрагменты внутренней мембраны ядра. Это открывает широкие возможности для изучения механизмов встраивания различных белков-ламинон, неспринов и ламин-связывающих белков в эту мембрану. Получены данные,

свидетельствующие о том, что микрофиламенты, входящие в состав внутриядерного матрикса, принимают активное участие в сборке ядерной оболочки.

НОВЫЙ СПОСОБ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ  
КОМПЛЕКСНЫХ ПРИЗНАКОВ В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ

В.Ю. Ковалева, В.М. Ефимов, А.Л. Маркель.

*Институт экологии и систематики животных СО РАН, Новосибирск, Россия*

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

## ЭВОЛЮЦИЯ И ПРОИСХОЖДЕНИЕ ЦЕНТРА ИНАКТИВАЦИИ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Колесников Н.Н., Елисафенко Е.А., Шевченко А.И. и Закиян С.М.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

*<KOLESNIKOV@BIONET.NSC.RU>.*

Происхождение половых хромосом и возникновение механизма инактивации X – хромосом в ходе эволюции млекопитающих остается одним из интригующих феноменов. Процесс инактивации регулируется определенным локусом X хромосомы - центром инактивации, центральное функциональное место в котором отводится гену Xist. Не смотря на достигнутые впечатляющие успехи в этой области, процесс инактивации, по-прежнему остается в фокусе внимания и обещает сюрпризы исследователям.

Открытым остается вопрос происхождения процесса инактивации, какие молекулярные механизмы лежат в основе его возникновения? Как и когда образовался ген Xist, на базе каких последовательностей? Поскольку этот ген относится к классу длинных некодирующих регуляторных РНК генов, то этот вопрос носит и более общий характер – как возникают регуляторные гены этого типа?

Целью работы было реконструировать предковый ген Xist плацентарных млекопитающих, определить особенности его структуры, пути эволюции, приоткрыть завесу на его происхождение. Определить основные этапы его возникновения, а также центра инактивации половых хромосом млекопитающих.

В настоящей работе мы провели сравнительный анализ структуры и особенностей организации этого гена у разных эволюционно близких и далеких видов млекопитающих, установили мозаичный характер эволюции структурных элементов гена, выявили общие консервативные и видоспецифические последовательности гена, межвидовую лабильность экзон-интронной структуры. Определили структуру гена для шимпанзе, собаки и крысы. Реконструировали предковый ген плацентарных млекопитающих, который примерно 100 млн. лет тому назад состоял из 10 экзонов, и оценили степень дивергенции структурных элементов от консенсуса и пути эволюции структуры гена у разных групп млекопитающих. Показали, что ген Xist имеет фрагментарную гомологию с белок-кодирующим геном курицы и, вероятней всего, возник *de novo* в ходе формирования половых хромосом плацентарных млекопитающих 130-180 миллионов лет тому назад, частично произошел из гена, кодирующего белок, был колонизирован транспозонами и тандемными повторами, трансформировавшими его структуру. Эволюция структуры гена носит мозаичный характер и ее направление различно для разных групп млекопитающих.

Центр инактивации половых хромосом млекопитающих произошел из района, содержащего белок кодирующие гены, подвергался значительным структурным преобразованиям в период формирования половых хромосом -320-240 миллионов лет назад, нашествию транспозонов и процессированных псевдогенов, псевдогенизации белок кодирующих генов.

---

ОРГАНИЗАЦИЯ ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИ РЕПРЕССИРОВАННЫХ РАЙОНОВ  
ХРОМОСОМ *Drosophila melanogaster*

Колесникова Т.Д., Андреева Е.Н., Пиндюрин А.В., Ананько Н.Г., Белякин С.Н.,  
Шлома В.В., Юрлова А.А., Макунин И.В., Похолкова Г.В., Волкова Е.И.,  
Заруцкая Е.А., Кокоза Е. Б., Семешин В.Ф., Беляева Е.С., Жимулев И.Ф.  
*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*  
факс: (383)-330-16-65, e-mail: [zhimulev@bionet.nsc.ru](mailto:zhimulev@bionet.nsc.ru)

Существенная часть генома эукариот находится в состоянии сайленсинга (эпигенетической репрессии). У *Drosophila melanogaster* это в первую очередь районы прицентромерного и интеркалярного гетерохроматина, а также районы эухроматина, подверженные эффекту положения мозаичного типа. Направленное изучение организации районов интеркалярного гетерохроматина политемных хромосом *D. melanogaster* началось с открытия гена *SuUR* (*Suppressor of UnderReplication*). Свойство мутации *SuUR* подавлять недорепликацию в районах интеркалярного гетерохроматина было использовано для молекулярного маркирования этих районов. Мы показали, что недореплицированные районы интеркалярного гетерохроматина содержат «молчащие» уникальные гены и сохраняют такие свойства как поздняя репликация и транскрипционно неактивное состояние хроматина в разных типах клеток. Более 50% районов содержат уникальные гены, собранные в кластеры по принципу скоординированности экспрессии. Обсуждается происхождение кластеров и возможные механизмы регуляции экспрессии содержащихся в них генов. Кроме того, обобщаются данные о гене *SuUR*, его экспрессии и влиянии на структуру и репликацию политемных хромосом, а также сведения о молекулярной организации индивидуальных районов интеркалярного гетерохроматина.

ГЕННЫЕ СЕТИ И ЭВОЛЮЦИЯ РЕГУЛЯТОРНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ СИСТЕМ

Н.А.Колчанов, В.В.Суслов, К.В.Гунбин

## ИМПОРТ ДНК В МИТОХОНДРИИ: ПРИЛОЖЕНИЯ В МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ И ИССЛЕДОВАНИЯХ ПО ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОМОВ ОРГАНЕЛЛ

Константинов Ю.М.\*, Кулинченко М.В.\*, Непомнящих Д.В.\*, Паньков М.Л.\*,  
Диетриш А.\*\*

*\*Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, ул. Лермонтова,  
д. 132, 664033 Иркутск, Россия; \*\*Институт молекулярной биологии растений  
НЦНИ, ул. Генерала Циммера, д. 12, 67084 Страсбург, Франция*  
E-mail: [yukon@sifibr.irk.ru](mailto:yukon@sifibr.irk.ru)

В связи с недавним обнаружением природного феномена переноса ДНК в митохондрии эукариот значительный интерес в настоящее время представляют как исследования физиологической значимости импорта ДНК в митохондрии различных таксономических групп организмов, так и работы, направленные на разработку системы генетической трансформации митохондрий для решения конкретных задач биотехнологии и биомедицины. В случае успешного развития этого направления исследований представляется возможным (1) понять координацию работы между генетическими системами ядра, хлоропластов и митохондрий, являющуюся необходимым условием нормального снабжения клетки АТФ, (2) исследовать процессы транскрипции, репликации и рекомбинации в митохондриях высших эукариот, (3) воздействовать на функцию или регуляцию митохондриальных генов и (4) осуществлять экспрессию трансгенов в органеллах, в частности, в биотехнологических целях. Экспрессия трансгенов в митохондриальном геноме растений имеет ряд несомненных преимуществ по сравнению с экспрессией этих генов в ядерном геноме, в частности, в связи с высокой надежностью контроля распространения таких трансгенных растений в окружающей среде (цитоплазматическое наследование признака). В докладе будут детально рассмотрены основные биохимические характеристики импорта ДНК в митохондрии высших растений. В процессе импорта ДНК в митохондрии растений участвуют белок наружной митохондриальной мембраны порин (VDAC) и белок-переносчик адениннуклеотидов (АНТ) в составе внутренней митохондриальной мембраны. Важно подчеркнуть, что трансмембранный перенос ДНК не сопровождается открытием митохондриальной поры мегапроницаемости. Процесс активного импорта ДНК интактными растительными митохондриями для своего протекания требует двухцепочечной ДНК, но не проявляет специфичности в отношении последовательности импортируемой ДНК. Нуклеотидная последовательность импортируемой молекулы не влияет на стабильность ДНК в митохондриальном матриксе. Установлено, что проникающий в растительные митохондрии генетический материал, в качестве которого, в частности, использована конструкция на основе линейной митохондриальной плазмиды *Zea mays* размером 2.3 т.п.н., содержащая ген *gfp* под контролем промотора митохондриального гена 18S рРНК картофеля, способен к транскрибированию. Обосновывается гипотеза о связи импорта ДНК в митохондрии растений с феноменом горизонтального переноса генов в этих органеллах и возможными путями эволюционного происхождения геномов митохондрий высших растений, отличающихся необычайно большими размерами (300-800 т.п.н.) и включающих наряду с высокомолекулярной ДНК видоспецифические наборы линейных и кольцевых плазмидоподобных ДНК. Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ (05-04-49137, 05-04-22004-НЦНИ) и СО РАН (междисциплинарные интеграционные проекты № 6, 47, 5.1).

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ АГРЕССИВНОГО И ОБОРОНИТЕЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ. РОЛЬ КЛЮЧЕВОГО ФЕРМЕНТА БИОСИНТЕЗА СЕРОТОНИНА.

Куликов А.В., Осипова Д.В.

*Лаборатория нейрогеномики поведения, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Поведение играет важную роль в процессе микроэволюции. Было показана ключевая роль оборонительного поведения в доместикации серебристо-черных лисиц, которая является моделью микроэволюции (Беляев, 1979, Трут, 1978). Получены экспериментальные доказательства ключевой роли межсамцовой агрессии в механизме распределения аллелей различных генов в популяции домового мыши (Осадчук, Науменко, 1981). Можно ожидать, что гены, контролирующие выраженность агрессивного и защитного поведения, будут играть существенную роль в эволюции вида.

Домовая мышь является классическим объектом генетики агрессивного и оборонительного поведения (Maxson, 1992). В настоящее время выявлено 17 генов, нокаут которых существенным образом изменяет выраженность агрессивного поведения у мышей (Maxson, 1999). Одним из эффективных способов защиты от нападения агрессивного сородича является реакция замирания, которая в крайней форме проявляется как каталепсия – длительная неподвижность с пластическим тонусом мускулатуры. Агрессия и замирание находятся в реципрокных отношениях: выработка агрессивной стратегии поведения полностью подавляет реакцию замирания (Kulikov et al., 1995), тогда как селекция на каталепсию существенно снижает агрессию мышей.

Имеются многочисленные экспериментальные доказательства участия медиатора головного мозга серотонина в механизмах агрессии и замирания (Попова, 2004). Ключевым ферментом биосинтеза серотонина в головном мозге является недавно открытый фермент триптофангидроксилаза-2 (ТПГ-2) (Walther et al., 2003). Была обнаружена мутация C1473G в гене *trh2*, приводящая к замене Pro<sup>447</sup> на Arg<sup>447</sup> в молекуле фермента и снижающая его активность при экспрессии в PC12 клетках (Zhang et al., 2004). Основным механизмом посттрансляционной модификации ТПГ-2 является обратимое фосфорилирование фермента кальций, кальмодулин зависимой протеинкиназой 2 (ПК-2) (Boadle-Biber, 1982).

Исследован вклад мутации C1473G и посттрансляционной модификации в регуляцию активности ТПГ-2 в мозге и наследственную выраженность агрессии и каталепсии мышей.

У мышей 10 инбредных линий мышей выявлена ассоциация C1473G полиморфизма с активностью ТПГ-2 в мозге: последняя была вдвое выше у животных с генотипом C/C, чем у мышей с генотипом G/G (Kulikov et al., 2005). Показано сцепление C/C генотипа с высокой, а генотипа G/G - с низкой активностями фермента в мозге у гибридов F2(B6 x BR) между контрастными линиями C57BL/6 (C/C) и CC57BR (G/G) (Куликов и др., 2007). Следовательно, полиморфизм C1473G является основным фактором, регулирующим изменчивость активности фермента в мозге мышей. Вариабельность ТПГ-2, обусловленная C1473G полиморфизмом, названа конститутивной изменчивостью. Кроме того, выявлен существенный вклад обратимого фосфорилирования в регуляцию активности фермента в мозге мышей C57BL/6 и BALB/c (Куликов, Воронова, 1995). Этот тип вариабельности назван регуляторной изменчивостью.



Обнаружена высокая положительная межлинейная ассоциация интенсивности межсамцовой агрессии с С1473G полиморфизмом: самцы линий с генотипом С/С вдвое чаще нападали на другого самца, чем животные с генотипом G/G (Kulikov et al., 2005).

С другой стороны, никакой ассоциации между С1473G полиморфизмом и выраженностью каталепсии выявлено не было. Более того, главный ген, определяющий предрасположенность к каталепсии у мышей, был локализован на 13 хромосоме (Куликов и др., 2003) и не сцеплен с геном ТПГ-2, расположенным на 10 хромосоме. В то же время, выявлена положительная ассоциация между активностью ТПГ-2 в стриатуме и каталепсией: самая высокая активность фермента в данной структуре обнаружена у единственной каталептической линии СВА (Kulikov et al., 1995). Это локальное увеличение активности ТПГ-2 у мышей каталептической линии, несомненно, является регуляторным, поскольку выработка у них агрессивности или введение ингибитора фермента существенно снижали активность ТПГ-2 в стриатуме и полностью подавляли каталепсию (Kulikov et al., 1995).

Таким образом, существуют два основных источника наследственного разнообразия активности ТПГ-2 в мозге мыши: конститутивная изменчивость, обусловленная мутацией С1473G гена *trh2*, и регуляторная, связанная с обратимым фосфорилированием молекулы фермента. Конститутивная изменчивость является одной из причин генетического разнообразия выраженности агрессивного поведения. Регуляторная изменчивость ассоциирована с предрасположенностью к реакции замирания. Можно предполагать, что ген, кодирующий ТПГ-2, и факторы, определяющие фосфорилирование фермента, контролируют агрессивное и защитное поведение и могут существенным образом влиять на динамику микроэволюционного процесса.

#### ЛИТЕРАТУРА:

- Беляев Д.К. Природа, 1979. Вып. 2. С.36-45.
- Куликов А.В., Базовкина Д.В., Муазан М.-П., Мормэд П. Докл. Акад. Наук, 2003. т.393. С. 134-137
- Куликов А.В., Воронова И.П. Бюлл. Экспер. Биол. Мед., 1995. т.119. С.67-68.
- Куликов А.В., Осипова Д.В., Попова Н.К., Генетика, 2007. в печати.
- Осадчук А.В., Науменко Е.В. Докл. Акад. Наук, 1981. т.258. С.746-749.
- Попова Н.К. Генетика, 2004. т.40. С.770-778.
- Трут Л.Н. Очерки по генетики поведения. Новосибирск: Наука, 1978. 256 с.
- Boadle-Biber M.C. Biology of Serotonergic Transmission / Osborne N.N.(ed.), N.Y.: John Wiley & Sons Ltd., 1982. P.63-94.
- Kulikov A, Kozlachkova E, Kudryavtseva N, Popova N. Pharmacol. Biochem. Behav., 1995. V.50, P.431-435.
- Kulikov A.V., Osipova D.V., Naumenko V.S., Popova N.K. Genes Brain Behav., 2005. V. 4. P.482-485.
- Maxson S.C. Genetically Defined Animal Models of Neurobehavioral Dysfunctions / Driscoll P. (ed.), Boston : Birkhauser, 1992. P.174-188.
- Maxson S.C. Neurobehavioral Genetics. Methods and Applications / Jones B.C., Mormede P. (eds.), Boca Raton : CRC Press, 1999. P. 293-300.
- Walther D.J., Peter J.-U., Bashammakh S., Hortnagl H., Voits M., Fink H., Bader M. Science, 2003. V.299. P.76.
- Zhang X., Beaulieu J.M., Sotnikova T.D., Gainetdinov R.R., Caron M.G. Science, 2004. V.305. P.217.
- .

## АНАЛИЗ МАЙОРГЕННОГО КОНТРОЛЯ ПОВЕДЕНЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ УДАЛЕНИЯ ОТ ЧЕЛОВЕКА У ПРОДУКТИВНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

В.С. Ланкин, Ж.П. Сигнорет, Ж. Навю

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

*Исследовательский центр Национального научно-исследовательского института  
сельского хозяйства, Тур-Нузилли, Франция*

*Селекционный центр племенного свиноводства Пен Ар Лан, Максент, Франция*

В отличие от литературных данных о полигенном контроле доместикационного поведения, результаты исследований, учитывающих роль пищевой мотивации в модуляции вызванного страхом к человеку поведения (реакции избегания/удаления от человека) у животных продуктивных видов, указывают на специфическую зависимость этой реакции от генетических влияний [1-4]. Типичным для породоспецифического дискретного разнообразия реакции удаления является существование контрастных спокойного «доместикационного» и «дикого» фенотипов поведения, в сочетании с устойчивой повторяемостью этой реакции в гетеротипных тестах. С целью проверки предположения о майоргенном контроле данной оборонительной реакции у продуктивных животных, осуществляемом аутосомным диаллельным локусом с аллелями *A* и *a*, нами были поставлены следующие задачи. Во-первых, провести сравнительное тестирование структуры специализированных пород по частотам фенотипов оборонительного поведения на равновесие Харди-Вайнберга, ожидаемое при косвенном отборе по свойствам этого поведения. Во-вторых, оценить реалистичность генетических гипотез: (а) промежуточного наследования реакции удаления от человека, обычного для поведенческих признаков эмоциональной реактивности [5, 6], и (б) Менделевской передачи аллелей *A* и *a* генотипами родителей, частоты которых должны быть больше у потомков с доместикационным (гомозиготы *AA*), чем с «диким» (гомозиготы *aa*) фенотипом, косвенно элиминированного селекцией в культурных породах [3, 4].

Исследования проводили на восьми группах-аналогах по полу и возрасту (2.7 и 4.6 мес) свинок и хрячков (116 особей) двух специализированных кроссбредных линий: отцовской лакони (LC) и материнской тиамеслан (ТМ), в отличие от первой, созданной более жестким отбором свиноматок, чем хрячков (подробно см. [4]). Для нивелирования влияния зоосоциальной иерархии на проявление оборонительной реакции, животных тестировали «в группе» и затем «индивидуально» по стандартной методике; проверку гипотез проводили по оценкам поведения за два теста. Особей с отсутствием реакции удаления от человека при кормлении относили к доместикационному 3-3-фенотипу (ранг 10.0), с выраженной реакцией удаления к «дикому» 0-0-фенотипу (ранг 1.0), всех других животных, изменяющих проявление этой реакции при тестированиях, относили к фенотипу промежуточного поведения.

Установлено, что у животных обеих линий изменчивость индивидуальных рангов оборонительного поведения обусловлена влиянием ( $r_w = 16.0\%$ ,  $P < 0.001$ ) генотипа производителя, его взаимодействий с интенсивностью селекции, возрастом потомков и не зависит от средовых влияний. При этом генотип отцов достоверно не влияет на изменчивость рангов у животных промежуточного фенотипа. Этот фактор детерминирует свойства поведения только у особей крайних 0-0- и 3-3-фенотипов. У последних фенотипическое проявление генотипической изменчивости реакции удаления от человека усиливается с возрастом: от 33.1% ( $P < 0.001$ ) в 2.7 мес до 54.4% ( $P < 0.001$ ) в «критическом» 4.6 мес возрасте, - соответствующем формированию устойчивых

индивидуальных оценок поведения у свиней, завершению контрольного откорма и следующему за ним отбору по продуктивности [4].

У всех подопытных групп распределение частот особей трех фенотипических классов поведения достоверно не отличается от распределения Харди-Вайнберга. В возрасте 4.6 мес, поведенческая структура и концентрация модального 3-3-фенотипа становятся сходными у самок и самцов из дивергентно специализированных линий: хрячки LC (57.1%) = свинки ТМ (60.7%) > свинки LC (14.3%) = хрячки ТМ (25.0%). Выявленная кластеризация групп совпадает с внутри- и межлинейными различиями в интенсивности селекции самок и самцов, что указывает на ее участие в коррелированном увеличении частот 3-3-фенотипа (генотипа) в обеих линиях.

Обнаружено, что средний ранг оборонительного поведения у самок и самцов промежуточного фенотипа (предполагаемых гетерозигот *Aa*) не зависит от их возраста, генотипа линии и является гомеостатированным признаком. При этом средний ранг, за исключением 4.6 месячных самок, достоверно не отличается от его теоретически ожидаемой величины (5.5) при промежуточном наследовании реакции удаления от человека. Более того, оказывается, что у особей этого фенотипа дисперсия рангов поведения меньше в 2.0–2.5 раза ( $P < 0.01$ ) их внутригрупповой дисперсии. Это возможно только в случае адекватной идентификации учитываемых генотипов (*AA*, *Aa*, *aa*) по фенотипу поведения, допускаемой установленным типом наследования, и моногенном контроле реакции удаления у свиней обеих линий.

Гипотезу майоргенного контроля проверяли по степени соответствия фактических и ожидаемых распределений при Менделевском характере расщепления оборонительного поведения. Рассмотрели следующие возможные условия случайных скрещиваний родителей трех известных генотипов. (1) без отбора по поведению. (2) отборного преимущества гомозигот (*AA*) и устранения от размножения гомозигот (*aa*), при интенсивности косвенного отбора  $s = 0.57$  и  $s = 0.86$ , сложившейся в процессе создания линий. (3) среднего контроля разнообразия (1:1:1) фенотипов поведения у животных в стабильной среде. Модель (1) соответствовала фактическим распределениям у самок LC, самцов ТМ и в объединенных выборках этих менее жестко селектируемых животных. Она уступала ( $P < 0.039$ ) модели (2) «селективных скрещиваний», подтверждающей майоргенный контроль наблюдаемого разнообразия реакции удаления от человека у свиней европейской лакони и китайско-европейской тиамеслан синтетических линий. Прямое доказательство представленного генетического контроля поведения нуждается в гибридологическом эксперименте.

Полученные результаты впервые свидетельствуют об участии гена главного эффекта в формировании селективно значимого доместикационного поведения у продуктивных видов животных. На основании оценок частот аллелей обозначенного нами гена *FWH* (fear-motivated withdrawal from human), как вероятного Менделевского маркера, рассмотрены популяционно-генетические параметры приспособительной поведенческой структуры породной популяции животных, определяющей особенности микроэволюции культурных пород [3, 4].

Работа финансировалась Национальным научно-исследовательским институтом сельского хозяйства Франции.

#### Литература

1. Стакан Г.А., Мартынова В.Н., Соскин А.А., Чернов Л.Л. // Генетика, 1976, 12, 11: 35-43.
2. Boissy A., Bouix J., Orgeur P. et al. // Genet. Sel. Evol., 2005, 37: 381-401.
3. Ланкин В.С., Буиссу М.Ф. // Генетика, 2001, 37, 7: 947-961.
4. Ланкин В.С., Буиссу М.Ф., Навю Ж. и др. // С.-х. биология, 2007, 4 (в печати).
5. Desautels C., Bidanel J.P., Mormede P. // Physiol Behav., 1997, 62, 2: 337-345.
6. Genetics and the Behavior of the Domestic Animals, ed. by T. Grandin. – New York, Academic Press. 1998. P. 356.

## ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТАНОВЛЕНИЯ ЭФФЕКТОВ АЛЬДОСТЕРОНА В КЛЕТКАХ ЭПИТЕЛИЯ НЕФРОНА КРЫСЫ

Н.С.Логвиненко, Е.И.Соленов, Иванова Л.Н.

*Институт цитологии и генетики, СО РАН, г. Новосибирск*

Основным регулятором баланса натрия в организме является альдостерон. Его физиологический эффект на реабсорбцию натрия в почке в основном реализуется на уровне почечных канальцев, представленных дистальным отделом нефрона и кортикальным отделом собирательных трубок (CCD). В онтогенезе у крыс гормональная компетентность по отношению к альдостерону развивается к 20му дню жизни, когда животные переходят на смешанное питание. Задачей данного исследования явилось сравнительное изучение динамики быстрого негеномного влияния альдостерона на параметры натриевого баланса в клетках CCD почки 10-ти дневной и взрослой крысы. Исследовано влияние физиологических доз альдостерона (10 нМ) на концентрацию внутриклеточного натрия  $[Na^+]_i$  в изолированных сегментах CCD 10-ти дневной и взрослой крысы с использованием флюоресцентной краски Na green при резком изменении внеклеточной концентрации натрия  $[Na^+]_o$  с 137 до 14 мМ. Фрагмент канальца, полученный методом микродиссекции, инкубировали с красителем Na green (5.0  $\mu$ M) при 37<sup>0</sup> С в течение 30 мин и проводили непрерывную регистрацию флюоресценции с частотой 20 Гц. У взрослых животных в контрольных условиях изменение внеклеточного натрия в омывающей среде с 137 до 14 мМ снижало концентрацию внутриклеточного натрия с  $31.7 \pm 0.3$  до  $5.1 \pm 0.2$  мМ. Добавление 10 нМ альдостерона приводило к менее значительному снижению внутриклеточного натрия. В течение первых секунд после начала действия гормона уровень  $[Na^+]_i$  стабилизировался на уровне  $7.9 \pm 0.2$  мМ, что более чем в полтора раза выше контроля ( $p < 0.05$ ). Амилорид (10-5М), блокатор натриевых каналов, введенный одновременно с альдостероном, подавлял этот эффект.

Внутриклеточный натрий ( $[Na^+]_i$ ) в клетках кортикальных сегментов собирательных трубок у 10-ти дневных крысят был ниже ( $24.5 \pm 1.3$  и  $35.9 \pm 4.9$  соответственно,  $p < 0.05$ ). Однако быстрая реакция на альдостерон (10нМ) оказалась одинаковой у животных обеих возрастных групп. В клетках CCD 10-дневных крысят, как и у взрослых животных в присутствии альдостерона течение первых 10-15 секунд уровень  $[Na^+]_i$  также повышался примерно на 40% при 14 мМ натрия в окружающей среде ( $p < 0.05$ ). Амилорид (10-5М) подавлял быстрый эффект альдостерона, что свидетельствует об участии амилорид-зависимого эпителиального натриевого канала (ENaC) в реализации данного эффекта гормона в обеих возрастных группах. Ранее нами [Логвиненко и др., 1989; 1991; 2004; 2007] и Stephenson с соавторами [1984] было показано, что в почке 10-ти дневных крыс минералокортикоидные рецепторы не участвуют в долговременной геномной регуляции экспрессии мРНК альфа-субъединицы натриевого насоса и ENaC, этих двух основных мембранных белков, участвующих в трансмембранном переносе ионов натрия в CCD. Таким образом, на основании предыдущих и полученных в данном исследовании данных можно сделать вывод о гетерохронности созревания молекулярных механизмов быстрых и долговременных, геномных эффектов альдостерона. Быстрые эффекты альдостерона на  $[Na^+]_i$  формируются раньше, по сравнению с долговременными, геномными. Возможно, это является отражением последовательности этапов созревания молекулярных эффектов гормона в ходе эволюции (Colombo et al., 2006). Более раннее созревание быстрых эффектов альдостерона может также играть значительную адаптивную роль в формировании осморегулирующей и транспортной функции почки.

Работа поддержана грантами РФФИ 05-04-48371, 05-04-48213 и грантом «Ведущие научные школы» НШ – 7071.2006.4

#### Литература

Логвиненко Н.С., Свиташева Н.Г., Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Рецепция альдостерона фракцией мембран и цитозолем почек крыс в постнатальном онтогенезе. Рос. Физиол. Журн. им. И.М. Сеченова. 76, 251-256. 1989.

Логвиненко Н.С., Хлебодарова Т.М., Соленов Е.И., Иванова Л.Н., Броуде Н.Е., Монастырская Г.С. Гормональная регуляция экспрессии мРНК  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы в почках крыс в постнатальном онтогенезе. Цитология. 33, 18-25. 1991.

Логвиненко Н.С., Хлебодарова Т.М., Соленов Е.И., Иванова Л.Н. Возрастные особенности рецепции альдостерона в дистальных сегментах нефронов крыс и индукции экспрессии  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы. Рос. Физиол. Журн. им. И.М. Сеченова. 90 (3): 375-384. 2004.

Логвиненко Н.С., Соленов Е.И., Кабилова Н.О., Каткова Л.Е., Иванова Л.Н. Возрастные особенности регуляции альдостероном экспрессии и функциональной активности эпителиального натриевого канала в почке крысы. Рос. Физиол. Журн. им. И.М. Сеченова. 93 (4): 420-428. 2007.

Colombo L., Dalla Valle L., Fiore C., Armanini D., Belvedere P. Aldosterone and the conquest of land. J Endocrinol Invest. Apr;29(4):373-379. 2006.

Stephenson G., Hammet M., Hadaway G., Funder J.W. Ontogeny of renal mineralocorticoid receptors and urinary electrolyte responses in the rat. Am J Physiol. 247(4 Pt 2):F665-71. 1984.

## ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ПЕРВИЧНУЮ ИНФЕКЦИЮ *SCHISTOSOMA MANSONI* КАК ПРИМЕР ВЗАИМНОЙ АДАПТАЦИИ ХОЗЯИНА И ПАРАЗИТА – ПЕРСПЕКТИВЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И ПРОФИЛАКТИКИ ШИСТОСОМОЗА.

Макарова Е.Н.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

*S. mansoni* – это внутривенный паразит человека, широко распространенный в странах третьего мира с теплым климатом (Африка, Южная Азия, Бразилия). В настоящее время около 200 млн. человек заражены и еще 600 млн. рискуют заразиться этим паразитом. Патогенным эффектом обладают яйца паразита, оставшиеся в организме хозяина, главным образом, в печени – вокруг них формируются грануломы. Это приводит к фиброзу перерождению печени и печеночной недостаточности. Тяжесть заболевания напрямую зависит от числа живых паразитов.

Человек заражается церкариями, проникающими через кожу при контакте с водой. В коже церкария превращается в личинку шистозомулу, которая мигрирует с кровью через сердце, легкие и печень в сосуды кишечника. При первичной инфекции развивается иммунный ответ на поверхностные антигены шистозомулы. Однако, в процессе миграции и созревания личинка покрывается снаружи белками крови хозяина и таким образом избегает иммунной атаки. При повторных заражениях значительная часть незрелых паразитов погибает под влиянием иммунной системы хозяина. Это существенно снижает тяжесть инфекции и позволяет хозяину выживать в районах с высокой зараженностью *S. mansoni*.

Поиск поверхностных иммуногенов паразита и создание рекомбинантных антигенов на их основе является перспективным подходом как для диагностики, так и для профилактики шистосомоза.

В группе проф. М. Гоеса (университет г. Бело Оризонте, Бразилия) была охарактеризована фракция белков взрослого паразита, обладающая защитными свойствами против шистозомной инфекции. Задачей данной работы были поиск, клонирование и исследование иммунных свойств белков этой фракции. Для клонирования использовали библиотеку кДНК взрослого паразита. Антисыворотку против белковой фракции использовали для скрининга бактериальных клонов. Был обнаружен клон, продуцирующий сероположительный рекомбинантный белок с м.в. 26кД (РБ26).

Оценивали: 1. защитное действие РБ26, 2. гуморальный и клеточный иммунный ответ при иммунизации РБ26, 3. иммунодиагностические свойства РБ26.

Было обнаружено: 1. иммунизация мышей РБ26 вдвое снижала число паразитов, развившихся после инфекции; 2. иммунизация вызывала формирование опсонизирующих антител IgG1 и IgG2a при отсутствии IgG3 и блокирующих IgM; 3. РБ26 стимулировал пролиферацию лимфоцитов селезенки у иммунизированных мышей *in vitro* и выделение лимфоцитами интерферона  $\gamma$  и фактора некроза опухоли  $\alpha$ . Эти данные говорят о том, что РБ26 обладает защитным эффектом при иммунизации, который реализуется путем формирования Th1-зависимого иммунного ответа.

Иммуноблоттинг с использованием антисыворотки против РБ26 выявил нативный белок весом 22 кДа во фракции растворимых белков взрослого паразита и не выявил сероположительных белков в секретируемой/экскретируемой паразитом фракции и белковой фракции яиц. Иммунофлуоресценция *in situ* выявляла антиген на поверхности взрослого паразита и не выявила ответа на срезах яиц паразита в печени. Это позволяет заключить, что нативный антиген *S. mansoni* является поверхностным белком незрелого

паразита. Т.о., РБ26 можно рассматривать в качестве перспективного кандидата для создания антишистозомной вакцины.

При исследовании иммунодиагностических свойств РБ26 было обнаружено, что он не выявляется сывороткой здоровых людей, в 100% случаев выявляется сывороткой пациентов в острой фазе шистосомоза и только в 40% случаев - сывороткой хронических больных. Не было выявлено никаких перекрестных реакций с сывороткой больных, зараженных *Trichuris*, *Trypanosoma cruzi* (chagas), *Amebae*, *Plasmodium falciparum*, *Ascaris* и *Ancylostom*, и только сыворотка 2 из 10 больных, зараженных *Leishmania*, дала перекрестную реакцию. Т.о., РБ26 с высокой чувствительностью и специфичностью выявляет острую фазу шистосомоза и может быть использован для разработки диагностических тест систем.

Работа проводилась на базе федерального университета г. Бело Оризонте, штат Минас-Жерайс, Бразилия. Работа поддержана грантами FAPEMIG и CNPq.

## СТРЕСС И ЭВОЛЮЦИЯ

Маркель А.Л.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Рассматривая беляевскую модель одомesticации лисиц, нельзя не удивиться тому размаху изменчивости со стороны самых разных организменных признаков, который был вызван к жизни процессом одомашнивания, а по сути интенсивным и направленным отбором по поведению. Этот отбор заключался не только в том, чтобы животные не были агрессивными по отношению к человеку и даже не в этом главная его направленность. Главное заключается в том, что в результате отбора на одоместикационное поведение возникает новая социальная структура – человек-домашнее животное, со своим языком и структурой общения, своим эмоциональным и психическим миром. Каковы же причины столь значительного всплеска изменчивости в процессе одомашнивания? Ключевое слово, произнесенное Беляевым, – **дестабилизация**, дестабилизация процессов онтогенеза. Отбор, который сопровождается такого рода процессами, был назван Беляевым дестабилизирующим. Дестабилизирующая форма отбора характеризуется тем, что в его сферу вовлекаются общеорганизменные регуляторные системы и, прежде всего, – системы нейроэндокринных регуляций и стресса. Действительно, проходя через горнило одоместикации, популяции животных подвергаются существенному стрессу. Это не только физический или физиологический стресс, это – популяционный, социальный, психо-эмоциональный стресс, который приводит к возникновению новых форм поведения, новых адаптаций и новых морфо-физиологических изменений.

Итак, речь идет о стрессе, как механизме дестабилизации и всплеска изменчивости при одоместикации. Знаменательно, что 2007 г. является юбилейным не только для Беляева, но и для автора концепции о стрессе – Ганса Селье, которому исполнилось бы ныне 100 лет. Концепция Селье о стрессе, как об общебиологическом феномене, оказалась чрезвычайно плодотворной и нашла свое место и применение в различных областях биологической и медицинской науки. Однако обращение Беляева к этой концепции не было данью моде, так как в то время (70-е годы прошлого века) эволюционная генетика не использовала в своих построениях концепцию Ганса Селье. Статья В. McClintock “The significance of the responses of the genome to challenge” появилась в журнале Science в 1984 г. В настоящее же время печатается довольно значительное количество работ о роли стресса в эволюции, но пионером этого направления следует все-таки признать Беляева.

Мы в своей работе исходили из того, что стресс является общеорганизменной реакцией, вовлекающей в сферу своего действия практически все регуляторные системы организма и, прежде всего, нейроэндокринную систему. Одним из важных эффектов гормонов стресса является регуляция работы генетического аппарата клеток. Это может лежать в основе влияния стресса на диапазон проявления генетической изменчивости. Беляев полагал, что некоторые гены могут находиться в перманентно репрессированном состоянии (он их называл «спящими» или «мочащими» генами, термин silencing по отношению к функции генов стал употребляться в англоязычной литературе позднее) и что стресс может «пробуждать» их активность. В последние годы появились данные о том, что увеличение изменчивости в условиях стресса может быть обусловлено не только за счет проявления скрытой генетической вариабельности, но и за счет возникновения мутаций de novo, в частности, вследствие вызываемого стрессом перемещения мобильных генетических элементов. Такие работы проводились в институте В.А.Ратнером и Л.А.Васильевой. По сути дела, мобильные элементы играют роль своеобразных геномных



«гормонов стресса», так как они, как и организменные гормоны, мобилизуются при стрессе, являются переносчиками информации и регуляторами работы генов-мишеней. Кроме того, имеются представления о том, что их перемещения по геному не носят абсолютно стохастического характера, отмечено наличие сайтов их предпочтительного встраивания, что напоминает гормон-рецепторные взаимодействия.

Нами в конце 70-х годов для целого набора различных физиологических признаков было показано, что, действительно, в генетически гетерогенной популяции при стрессе происходит увеличение диапазона изменчивости многих признаков. Причем, было показано, что изменчивость увеличивается благодаря наличию генетической гетерогенности. В инбредной линии крыс, в которой генетическое разнообразие практически отсутствовало, стресс не приводил к заметному расширению диапазона изменчивости поведенческих признаков. Далее выяснилось, что влияние стресса на уровень изменчивости зависит от силы стресса. Причем, эта зависимость имеет форму перевернутого U. То есть, в отсутствие стресса и в случае, когда он достигает очень большой силы, изменчивость становится минимальной. Изменчивость максимальна при некотором среднем уровне стресса. Интересно, что в профилактической медицине считается, что мягкий стресс, вызванный скажем умеренными физическими упражнениями, полезен для здоровья. Считается, что если он даже и усиливает проявление патологических мутаций, одновременно и в еще большей степени увеличивается активность полезных, защитных и компенсирующих механизмов. Далее, убедительным доказательством того, что увеличение фенотипической изменчивости при стрессе имеет генетическую базу, служат селекционные эксперименты, которые проводились нами на провокационном фоне стресса.

Наконец, хотелось бы остановиться еще на одном, как мне кажется, очень важном обстоятельстве. Причину стресса принято рассматривать как некоторое внешнее обстоятельство, с которым организм сталкивается не по своей воле. На самом деле это не совсем так. С появлением высокоразвитой нервной системы, особенно у человека, возникло одно неодолимое стремление – стремление к новизне, к получению новой информации. Следовательно, наш мозг становится одной из основных причин наших стрессов. Мы начинаем получать удовлетворение от новизны и необычности и на пути к этому удовлетворению мы зачастую сталкиваемся со стрессом. Таким образом, у нас развилось свойство, которое можно назвать пристрастием к стрессу («addiction to stress»). Причем это свойство характерно не только для людей, хотя у нас оно выражено, по-видимому, с особенной силой, но и для животных с развитой нервной системой. Во всяком случае, я это можно наблюдать у крыс. Итак, мы привержены к стрессу. Стресс, в свою очередь, индуцирует разнообразие, разнообразие увеличивает возможности для эволюции, а эволюция совершенствует наше поведение и нашу нервную систему. Таким образом, круг замыкается, эволюционный процесс ускоряется. Главным инструментом этого ускорения выступают нервная система и стресс.

## ИММУНИТЕТ И АДАПТИВНЫЙ ОБМЕН ХЕМОСИГНАЛАМИ

М.П. Мошкин

*Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск*

Экологические исследования паразит-хозяинных отношений дают все больше примеров того, что защита от инфекций является прерогативой не только отдельных особей, но и популяций в целом (Barnard, Behnke, 1990, Poulin, 1998). Немаловажную роль в популяционном контроле паразитической интервенции играет способность здоровых особей распознавать инфицированных конспецификов (Loehle, 1995, 1997; Kiesecker et al., 1999), а также способность животных к перестройке защитных функций в соответствии с социально обусловленными изменениями инфекционного риска (Klein, Nelson, 1999). Иными словами, внутривидовой обмен сигналами может вносить существенный вклад во взаимодействие макроорганизмов с паразитарным окружением.

Наиболее яркие примеры модификации визуальных, звуковых или химических сигналов были получены при изучении половой привлекательности инфицированных самцов (Zuk et al., 1990; Kavaliers, Colwell, 1993, 1995; Saino, Moller, 1994; Skarstein, Folstad, 1996; Penn et al., 1998). Изменения рекламных демонстраций могут базироваться как на прямом, так и опосредованном через сеть иммунно-нейроэндокринной регуляции, воздействие паразитов на сигнальные механизмы (Moshkin et al 2000). Учитывая неизбежность антигенной стимуляции при самых разных инфекциях и инвазиях, второй путь представляется наиболее универсальным способом модификации сигналов зараженного животного. Экспериментальная проверка данного предположения показала, что введение нереплицируемых антигенов, стимулирующих специфический иммунный ответ, приводит к снижению запаховой привлекательности у самцов мышей (Moshkin et al., 2001, 2002; Zala et al., 2002), к уменьшению интенсивности окраски клювов у черных дроздов (Faivre et al., 2003), к обеднению песенного репертуара у мухоловки-белошейки (Garamszegi et al., 2004). Все эти характеристики относятся к андроген-зависимым вторичным половым признакам. Поэтому экспериментальная стабилизация уровня тестостерона полностью отменяет сигнальные эффекты антигенной стимуляции (Litvinova et al., 2005).

Модификация хемосигналов при активации специфического иммунитета воспринимается как сигнал инфекционной опасности не только в тестах ольфакторного выбора партнеров, но и при других формах внутривидовых взаимодействий. Например, латентное время взятия корма увеличивается, если рядом с кормушкой находится подстилка из клетки антиген-стимулированного животного (Новиков и др., 2004). Кроме того, подстилка таких животных ограничивает проявление прямой агрессии при социальной конкуренции самцов лабораторных мышей и джунгарских хомячков (Новиков и др., 2004; Мошкин и др., в печати; Акулов и др., в печати).

Но не только активация иммунной защиты отражается на репродуктивных сигналах, существует и обратное взаимодействие, а именно, модификация иммунитета под влиянием половых феромонов. Адаптивная значимость сигнальной иммуномодуляции определяется тем, что с точки зрения инфекционного риска воспроизводство является одним из наиболее опасных занятий. Причем, наряду с инфекциями, передающимися половым путем (Altizer et al., 2003), риск заражения возрастает при ранениях, которые получают конкурирующие самцы (Hinson et al., 2004), а также при ольфакторном поиске партнеров, сопряженном с обнюхиванием насыщенных микроорганизмами мочевых и фекальных меток (Aland, personal communication).

При изучении иммуномодулирующего эффекта половых феромонов было установлено, что экспозиция самцов лабораторных мышей запахом половозрелых самок, с одной стороны, подавляет выработку антител (Moshkin et al., 2001; Суринов и др., 2001; Мошкин и др., 2004), которые нейтрализуют попавшие в циркуляцию патогены, а с другой, переориентирует защитные механизмы на ограничение инфекционных рисков, связанных с размножением (Moshkin et al., in press). При этом у самцов, получающих запаховые стимулы, растет количество тромбоцитов в крови и происходит мобилизация лейкоцитов в верхние дыхательные пути. В результате перераспределения защитных функций самцы, экспонированные запахом самок, проявляют большую устойчивость к ранениям и респираторным инфекциям, в частности к экспериментальному заражению вирусом гриппа.

Изучение обмена хемосигналами, как одного из механизмов популяционной адаптации к прессу паразитов, выходит за рамки фундаментального исследования и может найти приложение в ветеринарии и профилактической медицине. По крайней мере, как показывают наши данные (Мошкин и др., 2006; Tamagawa et al., in press), а также данные литературы (Stern K., McClintock, 1998; Grammer et al., 2002, 2005; Savic et al., 2005, 2006), люди, хотя и относятся к микросматикам, производят и распознают запаховые сигналы, в том числе и их изменения, обусловленные стрессом и болезнями.

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУР ТИМУСА ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ПОЛИОКСИДОНИЯ.

Мухаммад Захид, Меркулова Л. М., Стручко Г. Ю.  
*Чебоксары, Чувашский Государственный Университет.*

В последние годы появилось большое количество фармакологических препаратов и биологически активных добавок, используемых для профилактики и лечения ряда иммунодефицитных состояний. Одним из них является синтетический иммуномодулятор полиоксидоний, проявляющий высокую эффективность как в эксперименте, так и в клинике при комплексной терапии больных с хирургическими заболеваниями, бронхолегочной патологией, урогенитальной инфекцией и другими патологическими состояниями, сопровождающихся иммунодефицитом.

Цель работы – изучение люминесцирующих структур тимуса после введения полиоксидония. Эксперименты проведены на 25 белых беспородных крысах. Тимус забирали через 3 недели после начала введения препарата, криостатные срезы которого изучались с помощью общегистологических и люминесцентно-гистохимических методов.

Выявлено, что применение полиоксидония приводит к некоторой перестройке цитоархитектоники тимуса, а также к изменению функционирования его биоаминсодержащих структур. Отмечается увеличение количества люминесцирующих гранулярных клеток (ЛГК) кортико-медуллярной и субкапсулярной зон почти в 2 раза. В ЛГК премедулярного ряда уровень серотонина возрастает на 45 %, катехоламинов на 17%, в то время как концентрация гистамина снижается на 65%. Аналогичные изменения происходят в субкапсулярных клетках и в тимocyтах коркового и мозгового вещества. Такое перераспределение медиаторов приводит к уменьшению соотношения (СТ+ГСТ)/КА, которое в лимфоцитах коркового вещества становится равным 1,9, мозгового вещества-2,02, в то время как у интактных животных оно составляет 2,75 и 2,86 соответственно. Окраска срезов тимуса гематоксилином-эозином и проведение морфометрии долек выявили увеличение диаметра коркового и площади мозгового вещества в среднем на 11%.

Таким образом морфологические показатели тимуса свидетельствуют об усилении его функциональной активности после применения синтетического иммуномодулятора полиоксидония.

## СЕРОТОНИНОВЫЕ 5-HT<sub>1A</sub> РЕЦЕПТОРЫ В МОЗГЕ ЗИМОСПЯЩИХ ЖИВОТНЫХ

Науменко В.С.,<sup>1</sup> Ткачев С.Е.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт Цитологии и Генетики СО РАН

<sup>2</sup>Институт Химической Биологии и Фундаментальной Медицины СО РАН

Зимняя спячка представляет собой сочетание периодически возникающего глубокого и длительного сна с глубокой гипотермией. Ритм сердца в спячке составляет около 2-5% от частоты сокращений при нормальной температуре тела. Температура тела может снижаться до 3-1,5°C, т.е. более чем на 30°.

Имеются многочисленные данные о вовлечении серотониновой системы мозга в регуляцию зимней спячки, которые, несомненно, функционально реализуются посредством рецепторного аппарата. Однако состояние рецепторного аппарата серотониновой системы у зимоспящих животных в различные периоды цикла сон-бодрствование абсолютно не исследовано.

Среди множества серотониновых рецепторов наиболее интересен 5-HT<sub>1A</sub> подтип, поскольку именно эти рецепторы играют основную роль в регуляции гипотермии. Однако каковы особенности регуляции и динамика изменения экспрессии гена рецептора в мозге зимоспящих животных, находящихся в различных периодах цикла сон-бодрствование, неизвестно. Поскольку последовательность гена 5-HT<sub>1A</sub> рецептора сусликов до сих пор не была определена, поэтому первым этапом нашего исследования было секвенирование фрагмента гена, кодирующего 5-HT<sub>1A</sub> рецептор в мозге зимоспящих сусликов.

Сравнение полученной последовательности нуклеотидов с имеющимися в базе данных (EMBL Nucleotide database) последовательностями гена 5-HT<sub>1A</sub> рецептора других видов позволило выявить значительную гомологию между ними. Так, например, при сравнении участка полученной последовательности нуклеотидов, соответствующего пятому трансмембранному домену 5-HT<sub>1A</sub> рецептора, было выявлено 93.6% гомологии с таким же участком нуклеотидной последовательности мыши и крысы, в то время как гомология с фрагментом гена 5-HT<sub>1A</sub> рецептора человека составила 88.5%. Кроме того, при сравнении вышеуказанного фрагмента полученной последовательности нуклеотидов с аналогичными участками последовательностей, кодирующих другие серотониновые рецепторы (5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>7</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>), было обнаружено порядка 70% гомологии. Таким образом, можно заключить, что полученная последовательность нуклеотидов с большой долей вероятности принадлежит именно гену 5-HT<sub>1A</sub> рецептора суслика. На основании полученной последовательности была разработана пара праймеров, специфичных к фрагменту 5-HT<sub>1A</sub> гена сусликов.

При исследовании экспрессии гена 5-HT<sub>1A</sub> рецептора в мозге сусликов были установлены значительные структуроспецифичные изменения, происходящие в различные периоды цикла сон-бодрствование. Так во фронтальной коре на протяжении всего цикла уровень мРНК 5-HT<sub>1A</sub> рецептора существенно не изменяется, в то время как в гиппокампе и среднем мозге в уровне мРНК 5-HT<sub>1A</sub> рецептора происходят значительные изменения во время впадения в спячку или пробуждения.

Важно отметить, что в гиппокампе существенное повышение уровня мРНК рецептора происходит непосредственно перед впадением в спячку, так и в период пробуждения. Уровень мРНК 5-HT<sub>1A</sub> рецептора в период активного бодрствования составил 3.7±0.33, тогда как в период впадения в спячку он значительно повышается и

составляет  $10.2 \pm 2.63$ , ( $p < 0.05$ ). Весной, при пробуждении ото сна, происходит увеличение экспрессии гена 5-HT<sub>1A</sub> рецептора в гиппокампе с  $2 \pm 0.38$  до  $8.1 \pm 2.03$ , ( $p < 0.05$ ). В среднем же мозге наблюдается прямо противоположная картина. В периоды впадения в спячку и пробуждения происходит снижение экспрессии гена рецептора.

Примечательно, что уровень мРНК 5-HT<sub>1A</sub> рецептора во всех структурах мозга в период зимней спячки остается относительно высоким, что несомненно доказывает существенную роль данного рецептора в регуляции зимней спячки и сопровождающей ее гипотермии.

При впадении в спячку и пробуждении регуляция состояния 5-HT<sub>1A</sub> рецепторов гиппокампа происходит, вероятно, на транскрипционном уровне. Необходимо отметить, что температура тела животных, находящихся на стадии подготовки к зимней спячке, составляла 37°C, то есть гипотермическая реакция еще не начала развиваться. Это дает основание предположить, что повышение уровня мРНК 5-HT<sub>1A</sub> рецептора в гиппокампе в период подготовки к впадению в спячку и, как следствие, повышение количества рецепторов, опосредует гипотермию и связанную с ней спячку. Таким образом, можно заключить, что увеличение экспрессии гена 5-HT<sub>1A</sub> рецептора в гиппокампе в период впадения в спячку и ее восстановление при пробуждении является необходимым условием для, соответственно, впадения в спячку и пробуждения. Это заключение совпадает с представлениями о гиппокампе как о пейсмейкере зимней спячки, сформировавшимися на основе электрофизиологических исследований. Гиппокамп оказался единственной структурой мозга, сохранявшей значительную импульсную активность в состоянии глубокой спячки (Штарк, 1970; South et al., 1972).

СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ГЕНА *DIP1*, УЧАСТВУЮЩЕГО  
В КОНТРОЛЕ ТРАНСПОЗИЦИИ РЕТРОТРАНСПОЗОНА *Gypsy*,  
У ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИ РОДСТВЕННЫХ ВИДОВ *Drosophila*

Нефедова Л.Н., Коростин Д.О., Потапова М.В., Романова Н.И., Ким А.И.  
Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова,  
биологический факультет, кафедра генетики

Транспозиции ретротранспозона *gypsy* контролирует ген *flamenco*, локализованный в районе 20A X-хромосомы. Методом транспозонного мутагенеза было показано, что основным кандидатом на роль гена *flamenco* является ген *DIP1*, поскольку инсерция транспозона находится на расстоянии 1.5 т.п.н. от начала трансляции этого гена. Мы обнаружили, что ген *DIP1 D.melanogaster* содержит во втором интроне вставку мобильного генетического элемента (МГЭ) *HB*. Причем в линии с фенотипом *flamenco*<sup>+</sup> (в отличие от линий *flamenco*<sup>-</sup>) этот МГЭ имеет делецию размером 280 п.н. в кодирующей части ОРС. Полученные данные позволили предположить, что, во-первых, линии *flamenco*<sup>-</sup> эволюционно старше линий *flamenco*<sup>+</sup>, и, во-вторых, что инсерция *HB* может влиять на функцию гена *DIP1*.

Ген *DIP1 D. melanogaster* кодирует, по разным оценкам, 4-8 продуктов, образующихся в результате альтернативного сплайсинга пре-мРНК. Продукты гена – регуляторные белки, функции которых слабо изучены, и которые работают, главным образом, в ядре. Самый прямой способ исследования функции гена – его инактивация. Однако *DIP1* является регуляторным, и поэтому, по-видимому, жизненно важным геном. Функция подавления транспозиций *gypsy* у гена *DIP1* является вторичной (плейотропной). Таким образом, полное выключение этого гена является трудно выполнимой задачей. По этой причине мы решили исследовать функцию гена *DIP1* через сравнительный анализ его структуры и экспрессии на уровне транскрипции у других видов *Drosophila*. Были изучены наиболее близкие к *D. melanogaster* виды – *D. mauritiana*, *D. simulans* и *D. sechellia*, более далекие от *D. melanogaster*, но тоже относящиеся к подгруппе *D. melanogaster* виды *D. yakuba*, *D. santomea*, *D. teissieri*, *D. erecta*, и *D. oreana*, а также два далеких вида: *D. funebris* и *D. virilis*. В результате проведенных исследований было показано, что ген *DIP1* присутствует в геномах всех исследованных видов, кроме *D. virilis* и *D. funebris*. Ни один из исследованных видов не содержит во втором интроне гена *DIP1* инсерцию МГЭ *HB*. Более того, МГЭ *HB* обнаружен в геномах только трех видов: *D. mauritiana*, *D. simulans* и *D. sechellia*. Ген *DIP1* у всех исследованных видов имеет довольно консервативную структуру по всей длине, за исключением первого интрона. Анализ экспрессии *DIP1* на уровне транскрипции выявляет различия в спектре форм кДНК этого гена у разных видов *Drosophila*. По-видимому, это обусловлено вариабельностью последовательности первого интрона, который в гене *DIP1 D. melanogaster* содержит альтернативный промотор.

## АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И ТРАНСПОЗИЦИЙ РЕТРОТРАНСПОЗОНОВ ГРУППЫ *GYPSY* В РАЗНЫХ ВИДАХ *Drosophila*

Нефедова Л.Н., Дыйканов Д.Т., Юсупова Ю.Р., Романова Н.И., Ким А.И.

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра генетики

В настоящее время анализ секвенированного генома *D. melanogaster* позволяет выделить как минимум десять различных семейств ретротранспозонов, имеющих структуру, принципиально сходную с МГЭ *gypsy* и характеризующуюся наличием трех ОРС. К мобильным элементам группы *gypsy* помимо него самого относятся *ZAM*, *Idefix*, *Tirant*, *opus*, *springer*, *Quasimodo*, *17.6*, *297* и *rover*. Все эти элементы можно отнести к эррантивирусам дрозофилы - реальным (*gypsy*, *ZAM*, *Idefix*) и потенциальным (все остальные, чьи инфекционные свойства еще не подтверждены экспериментально).

Биоинформатическими методами были установлены филогенетические взаимоотношения между ретротранспозонами группы *gypsy* в геноме *D. melanogaster*. С целью установления путей эволюции этих элементов в других видах *Drosophila* был проведен анализ их распределения методом ПЦР. Исследования проводились на филогенетически близких к *D. melanogaster* видах: *D. mauritiana*, *D. simulans* и *D. sechellia*, более далеких, но тоже относящихся к подгруппе *melanogaster* видах *D. yakuba*, *D. santomea*, *D. teissieri*, *D. erecta* и *D. orena*, а также двух далеких видах: *D. funebris* и *D. virilis*. Показано, что спектр и распределение исследованных ретротранспозонов различается в разных видах *Drosophila* в зависимости от степени родства с *D. melanogaster*, что позволяет установить эволюционный возраст этих элементов, а также указывает на возможность их межвидового горизонтального переноса.

Методом обратной ПЦР и Саузерн-блот гибридизации была проанализирована транспозиционная активность десяти ретротранспозонов в геномах генетически стабильной и генетически нестабильной линий *D. melanogaster*. Генетически нестабильная линия характеризуется активными транспозициями ретротранспозона *gypsy*, которые происходят вследствие мутации в контролирующем его активность гене *flamenco*. В результате проведенного анализа было выявлено, что, по крайней мере, два ретротранспозона, *ZAM* и *Idefix*, имеют различное генетическое окружение в исследованных линиях, что, по-видимому, связано с их транспозицией. Таким образом, ген *flamenco* участвует в контроле транспозиций не только ретротранспозона *gypsy*, но и других ретротранспозонов этой группы.



МЕХАНИЗМЫ ЭВОЛЮЦИИ ЭРРАНТИВИРУСОВ *Drosophila melanogaster*

Л.Н.Нефедова, А.И.Ким

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, биологический факультет, кафедра генетики

В геноме *D. melanogaster* присутствуют различные семейства ретротранспозонов с разными комбинациями функциональных доменов и разными механизмами транспозиции. Из них только ретротранспозоны группы *gypsy* напоминают по структуре ретровирусы, а остальные, по-видимому, являются промежуточными формами эволюции ретровирусов. Многие обнаруженные в геноме варианты ретротранспозонов нельзя считать продуктами деградации вирусов, поскольку они характеризуются уникальной, не свойственной вирусам, структурой. Несмотря на то, что вопрос о происхождении ретровирусов остается открытым, в настоящее время наиболее обоснованной представляется гипотеза происхождения ретровирусов от ретротранспозонов. Сравнительный анализ различных семейств ретротранспозонов позволяет представить механизмы эволюционного формирования («сборки») эррантивиров *D. melanogaster*. Приобретение мобильными генетическими элементами новых свойств связано, по-видимому, с захватом «хозяйских» генов, генов паразитирующих в этом организме вирусов и протеобактерий.

Инфекционные свойства ретротранспозонов группы *gypsy* обусловлены функциональностью третьей открытой рамки считывания (ОРС3), кодирующей белок Env, которую они, по-видимому, приобрели у бакуловирусов. МГЭ группы *gypsy* условно можно разделить на три подгруппы: с тремя ОРС, с неполноценной ОРС3 и без ОРС3. С целью установления путей эволюции ретротранспозонов группы *gypsy* *D. melanogaster* проанализированы элементы перечисленных подгрупп. Анализ структуры ретротранспозонов *opus* и *rover*, имеющих неполноценные ОРС3, а также ретротранспозонов *Burdock*, *McClintock*, *qbert* и *HMS-Beagle*, не имеющих ОРС3, свидетельствует о том, что эволюция этих МГЭ идет по пути утраты ОРС3. В то же время, МГЭ той же подгруппы *Transpac* может представлять собой предковую форму, которая приобрела ген *env* и дала начало первым эррантивировсам. Захват ретротранспозонами ОРС3 способствовал их переходу в качественно новое состояние. Однако, ОРС3 не находится под жестким давлением отбора в геноме, поскольку она не является необходимой для внутригеномной транспозиции, и поэтому процесс ее последующей постепенной утраты представляется вполне естественным и закономерным.

## ЭВОЛЮЦИОННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ИММУНИТЕТА НАСЕКОМЫХ

А.Г. Николенко

*Институт биохимии и генетики УНЦ РАН,*

*450054, Уфа, проспект Октября 71, ИБГ*

*e-mail: a-nikolenko@yandex.ru*

Равная степень приспособленности к среде обитания организмов, будь то бактерия или человек, на сегодняшний день является почти аксиомой. В то же время, при взгляде на второй вектор эволюции – усложнение организации – по-прежнему сохраняется антропоцентрический подход. Вершиной эволюции считаются исключительно млекопитающие, как таксон, породивший человека. С точки зрения возникновения разума это выглядит обоснованно. По крайней мере, на данный момент. А вот с точки зрения перспектив биологической эволюции уже сейчас возникает множество сомнений.

Не случайно общая схема филогении животных увенчана двумя ветвями. Пятьсот миллионов лет существования позвоночных не прошли даром и для беспозвоночных и, в первую очередь, для насекомых. Наглядным примером этого может служить развитие иммунитета.

Задайте вопрос об иммунитете специалисту в области медицины, и вы, скорее всего, получите в ответ утверждение, что истинный иммунитет присущ лишь позвоночным. Причём основными доводами в пользу этого будут способность последних продуцировать антитела, специфически взаимодействующие с любым чужеродным вторжением, а также сохранение их активности длительное время. Не случайно ещё совсем недавно, в 70-е годы, в общеприкладном журнале была опубликована статья известного академика «У насекомых иммунитета нет!»

Отсутствие антител у насекомых можно было бы оспорить. У них известен широкий спектр индуцибельных гуморальных факторов. Антимикробные пептиды насекомых появляются уже через несколько часов после введения антигена. В наших исследованиях было показано, что экспрессия антимикробных пептидов у пчелы может возрасть уже через 15 минут после введения патогена (Львов, Николенко, 1999). Пептид насекомых цекропин (гемолин) на 38% гомологичен некоторым доменам иммуноглобулинов. В отличие от иммуноглобулинов антибактериальные пептиды обладают активностью относительно более широкого спектра и сохраняют свою активность лишь несколько дней. Однако если учесть срок жизни насекомого, различие в сроках не выглядит столь уж очевидным. Более того, у таракана американского обнаружен высокоспецифичный индуцибельный белок, который сохраняет активность в течение недель.

И всё же вопрос о наличии или отсутствии антител у насекомых не столь принципиален. С точки зрения перспектив эволюции на первый план выходит вопрос об эффективности и перспективах дальнейшего развития различных систем организма, в том числе и системы иммунитета. За долгий период эволюции после ответвления позвоночных у насекомых возникла не менее сложная, но принципиально отличная система иммунитета. В последние годы было показано, что насекомые обладают сложной и эффективной системой конституциональных механизмов (Глулов, 2001 и др.). Серия наших исследований была посвящена изучению особенностям приобретённого иммунитета насекомых с полным типом превращения.

В многочисленных экспериментах была показана возможность иммунизации насекомых как под воздействием патогенов, так и введении им биологически активных

веществ, например хитоолигосахаридов, которые создают структурный след адаптации (Салтыкова и др., 2000), или преактивации некоторых конституциональных защитных систем с помощью антиоксиданта - аскорбиновой кислоты. В данном случае под иммунизацией мы понимаем стойкое усиление активности либо реактивности защитных систем, рост резистентности организма насекомого к повторному воздействию повреждающего фактора. На наш взгляд сам феномен существенного повышения устойчивости в онтогенезе насекомого куда важнее того, какие механизмы обуславливают реализацию этого феномена.

Мы обнаружили также существенные различия между механизмами формирования иммунной памяти на разных этапах онтогенеза насекомых с полным типом превращения. С точки зрения закономерностей иммунизации личинка третьего возраста и имаго колорадского жука представляются совершенно разными организмами. В повышении устойчивости к патогену личинки задействованы менее специфичные защитные системы (ферменты антиоксидантной системы, ДОФА-оксидаза, метаболические клетки гемолимфы - эноциты и сферулоциты). В случае половозрелого имаго ведущая роль в иммунизации переходит к более специфичным механизмам защиты (гемагглютинины, тирозиназа, иммунокомпетентные клетки - активные веретенновидные фагоциты) (Гайфуллина и др., 2004 а).

Длительность сохранения иммунизации зависит от множества факторов. Наиболее долговременно, часто в течение всего онтогенеза, иммунная память сохраняется при воздействии на организм насекомого в критические периоды его развития, приходящиеся на моменты частичной или полной перестройки организма в процессе линьки (Салтыкова и др., 2005 а). При этом заметно возрастает роль более специфичных защитных систем. Более того, в экспериментах с комнатной мухой мы наблюдали эффект трансгенерационной передачи ряда признаков, приобретённых личинкой в процессе иммунизации, т.е. отдаленное действие иммунизации (Гайфуллина и др., 2004 б).

Наконец, в экспериментах с нелетальными дозами патогена, которые оказывают даже легкое стимулирующее действие на организм насекомого (так называемый эффект гормезиса) было показано, что иммунизация может вносить вклад в рост общей устойчивости популяции наравне с естественным отбором (Гайфуллина и др., 2002).

Таким образом, проблема управления популяциями насекомых требует знания их специфики, в том числе и закономерностей формирования иммунной памяти. Большие усилия по созданию инсектицидов, разработке интегрированных систем управления численностью насекомых-вредителей, поиску новых веществ, регулирующих рост растений, сводятся на нет в результате слабого внимания к особенностям иммунитета насекомых, игнорированию их чрезвычайно высокой внутривидовой гетерогенности, в т.ч. внутривидовых и межвидовых различий в стратегии иммунного ответа (Салтыкова и др., 2005 б).

Аналогичные проблемы возникают при работе с полезными насекомыми. Интенсивная межпородная гибридизация пчёл и последовавшее за этим резкое снижение их зимостойкости и устойчивости к болезням и вредителям вызвало мощный всплеск исследований в поиске новых адаптогенов (Салтыкова и др., 2002). Однако сколько-нибудь существенного эффекта пока не достигнуто, поскольку простейшие подкормки лишь компенсируют погрешности в технологии содержания пчёл, а высокоэффективные вещества требуют серьёзных исследований для разработки регламента их применения, в том числе и с учётом особенностей иммунитета насекомых, чему пока ещё уделяется недостаточно внимания (Салтыкова и др., 2004).

## ВЗАИМОСВЯЗЬ ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ И ИММУННОЙ СИСТЕМ ПРИ ОТБОРЕ ЖИВОТНЫХ НА ДОМЕСТИКАЦИОННОЕ ПОВЕДЕНИЕ

И. Н. Оськина

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Концепция отбора Д.К. Беляева рассматривает эволюционные преобразования поведения при доместикации животных, прежде всего, как изменения регуляторных систем организменного уровня. Более 40 лет назад, когда Д.К. Беляевым была сформулирована его эволюционная концепция отбора, выделяли основные регуляторные системы: нервная, эндокринная, тесно взаимосвязанные между собой и обеспечивающие гомеостаз организма к изменяющимся условиям среды. Иммунную же систему рассматривали, как автономную, саморегулирующую, не имеющую взаимосвязей с другими системами. В настоящее же время уже не вызывает сомнений, что все три системы анатомически и функционально взаимосвязаны, экспрессируя и отвечая на общие регуляторные молекулы, такие как стероидные гормоны, нейропептиды, медиаторы и цитокины. Особое место при этом занимает гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система. Ее активность является определяющим фактором при нарушении гомеостаза, независимо от причин, вызывающих его. Кроме того, гормоны этой системы, прежде всего, глюкокортикоиды участвуют в регуляции многих иммунных процессов.

Отбор животных разных таксономических групп (серебристо-черная лисица, серая крыса) сопровождается однонаправленными изменениями в медиаторных и гормональных системах. Наиболее глубокие изменения произошли в функции ГГНС. В результате отбора по поведению ослабляется функциональная активность как центральных и периферических звеньев этой системы. В последнее время нами показано, при отборе на ручное поведение изменяется и экспрессия генов, участвующих в регуляции ГГНС.

Учитывая выше сказанное, было проведено изучение иммунной функции у серых диких крыс, селекционируемых по поведению. Результаты исследования продемонстрировали, что у ручных крыс изменена реакция и динамика гормонов ГГНС не только на эмоциональный стресс, но и на иммунологические стимулы, что, по-видимому, свидетельствует о происшедших в результате отбора изменениях взаимосвязей между ГГНС и иммунной функцией. Изучение адаптивного иммунного ответа показало, что у ручных крыс по сравнению с агрессивными снижен первичный и вторичный гуморальный ответ и титр антител в крови на Т-зависимый антиген. Клеточный же иммунный ответ (реакция гиперчувствительности замедленного типа) у ручных животных повышен. В экспериментальных моделях аутоиммунных заболеваний Т-клеточной природы у этих животных воспалительные процессы также более выражены, чем у агрессивных.

Об изменениях иммунной регуляции в процессе отбора по поведению свидетельствуют и данные о пролиферативной активности клеток в условиях *in vitro*. Пролиферация лимфоцитов в селезенке при митогенной стимуляции, в особенности Т-лимфоцитов, у ручных крыс была существенно выше, чем у агрессивных. Кроме того, у них изменены и морфологические показатели селезенки.

Таким образом, впервые показано, что отбор на доместикационное поведение изменяет не только регуляторные системы, непосредственно участвующие в поведенческих реакциях на изменения внешней среды, но и такую важную систему поддержания гомеостаза, как иммунная. Возможно, одной из причин изменения иммунной функции у животных при отборе на доместикационное поведение является ослабление активности ГГНС.

Работа поддержана РФФИ (грант № 05-04-48378).

## СЕЛЕКЦИЯ ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ НА БОЛЬШОЙ И МАЛЫЙ ВЕС МОЗГА: ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНИЯ.

Перепелкина О.В., Тимошенко Т.В., Маркина Н.В., Полетаева И.И.  
*Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия*

Благодаря нескольким успешным селекционным экспериментам, три из которых были проведены в нашей лаборатории, в настоящее время можно утверждать, что мыши с генетически детерминированным большим весом мозга обладают достоверно более высокой способностью к обучению. Оценка поведения мышей линий БМ и ММ (Большой и Малый Мозг) в батарее тестов позволила выявить как устойчивые (в ряде поколений), так и периодически возникающие межлинейные различия. Устойчивыми были различия в способности к обучению и к решению задачи на экстраполяцию направления движения стимула. Было показано, что среди мышей с большим весом мозга обнаруживается больший процент животных, способных к решению этой элементарной логической задачи. Различия в уровне страха и тревожности проявлялись только в некоторых поколениях и их знак был разным. Содержание в «обогащенных» условиях среды достоверно улучшило способности к решению задачи на экстраполяцию у мышей обеих линий, но более четко этот эффект был выражен у БМ. Использование иммуногистохимического метода выявления новых нервных клеток в ЦНС показало, что обогащение условий содержания животных усилило процесс нейрогенеза. Предварительные результаты свидетельствуют о возможных межлинейных различиях в эффектах «обогащения» среды на нейрогенез взрослого мозга.

Работа поддержана грантом РФФИ № 04-04-48445.

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ РАЗЛИЧИЯ В ОТДАЛЕННЫХ ЭФФЕКТАХ НЕОНАТАЛЬНЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ЦНС ЛАБОРАТОРНЫХ ГРЫЗУНОВ.

Перепелкина О.В., Тимошенко Т.В., Маркина Н.В., Ревущин А.В.,  
Полетаева И.И.

*Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия*

Будут представлены результаты экспериментов по тестированию поведения («открытое поле», крестообразный лабиринт, аудиогенная эпилепсия, болевая чувствительность) взрослых грызунов (мышей и крыс) разных генотипов после введения им биологически активных веществ разных классов (нейропептид семакс, кофеин, мелатонин, пираретам, левитеретам, L-NAME и др.) в течение первой недели жизни. Полученные данные свидетельствуют, что в целом ряде случаев подобные воздействия вызывают отдаленные эффекты, т.е. изменения в функции ЦНС животных, которые обнаруживаются через несколько месяцев, уже после достижения животными половозрелого возраста. Подобные изменения можно лишь частично объяснить прямым фармакологическим эффектом исследуемого вещества на мозг, т.е. таким, каким оно обладает и при воздействии на мозг взрослого животного. В ряде случаев следует предположить, что неонатальное вмешательство может модифицировать развитие некоторых структур мозга и вызвать отклонения в развитии. Вследствие этого возникают изменения в поведении, которые не поддаются логичной трактовке с точки зрения, например, усиления или ослабления той или иной мотивации, а также повышения или понижения общего уровня активности животного. Мы полагаем, что тонкие морфологические сдвиги, которые происходят в нейронных сетях в период активной дифференцировки нейронов, могут быть одной из причин подобных «нелогичных» результатов. Например, введение нейропептида семакса в неонатальном возрасте мышам вызывает и усиление видоспецифических движений исследовательской активности (т.е. якобы активацию поведения), и усиление груминга (т.е. якобы усиление тревожности). Получены морфологические свидетельства того, что неонатальное введение нейропептидов изменяет число нейронов в *zona incerta* промежуточного мозга мыши.

Получены данные о модуляции порогов болевой чувствительности взрослых животных после инъекций и просто болевой стимуляции в неонатальный период. По существующим представлениям первая неделя жизни домового мыши и серой крысы по уровню развития ЦНС соответствует последнему триместру беременности человека, что позволяет заключить о потенциальной практической важности подобных данных.

Работа поддержана грантом РГНФ № 06-06-00351а.

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОЭВОЛЮЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ  
У БЛИЗКОРОДСТВЕННЫХ ВИДОВ РОДА *BAICALIA* (MOLLUSCA:  
CAENOCASTROPODA).

Перетолчина Т.Е. \*, Щербаков Д.Ю., Ситникова Т.Я.

Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, 664033, Россия, [\\*tanya@lin.irk.ru](mailto:*tanya@lin.irk.ru)

Вид *Baicalia carinata* (Dybowski, 1875) относится к эндемичному семейству брюхоногих моллюсков Baicaliidae, населяющему озеро Байкал. Наличие внутривидовой изменчивости (разнообразие формы и скульптуры раковины) и переходных форм со сглаженными морфологическими признаками серьезно затрудняет видовую идентификацию и систематику этой группы.

Данная работа посвящена изучению филогенетических взаимоотношений *Baicalia carinata* с сестринскими видами и определению популяционно-генетической структуры этого вида из различных районов озера. Подобные работы для беспозвоночных проводились при исследовании японских наземных моллюсков и байкальских гаммарусов.

Нуклеотидные последовательности фрагмента митохондриального гена CO1 длиной 588 п.н. определены для 114 представителей *B. carinata*, собранных из 25 районов озера Байкал и для 16 представителей близкородственных видов *B. carinato-costata*, *B. carinata rugosa*, *Baicalia turrisformis* и *B. dybowskiana*. Последовательности частично депонированы в GenBank, номера доступа DQ436347 - DQ436441. Генетический полиморфизм исследованных нуклеотидных последовательностей колеблется от 0 - 4,3% замен внутри вида *B. carinata* до 6,8% замен между сестринскими видами, среднее число замен – 3,5%.

Нуклеотидные последовательности фрагмента ITS1 ядерной ДНК длиной 360 п.н. определены для 95 представителей *B. carinata* и 10 представителей близкородственных видов: *B. carinato-costata*, *B. turrisformis*, *B. carinata rugosa*, *B. dybowskiana*. Среднее число замен между последовательностями *B. carinata* около 2%.

Наблюдаемый уровень генетического полиморфизма свидетельствует о том, что даже некодирующие гены ядерной ДНК эволюционируют с той же скоростью или медленнее, чем кодирующие гены митохондриальной ДНК, что согласуется с литературными данными.

На основе полученных последовательностей построили филогенетические древа методом максимального правдоподобия и простирающиеся деревья методом максимальной экономии.

Простирающееся древо показывает кратчайший путь от одной нуклеотидной последовательности до другой в предположении, что предковые и более молодые гаплотипы сосуществуют и учитывает современные замены. Такой метод хорошо подходит для изучения географической структурированности вида. На основе построенных простирающихся древ можно сказать, что *B. carinata* является предковым видом для других видов рода *Baicalia* и образует в озере две популяции. Первая популяция включает в себя представителей восточного берега от м. Тонкий до м. Понгонье (северо-восточная популяция), вторая – организмов, населяющих южный Байкал от Муринской Банки до Больших Котов и Западный берег Байкала до о. Ярки (северо-западная).

Анализ филогенетического древа, построенного на основе последовательностей CO1 также показал, что *B. carinata* распадается на две клады, соответствующие северо-западной и северо-восточной популяциям. Кроме того следует отметить, что *B. rugosa*,

который описан как подви́д *B. carinata*, и другие сестринские виды хоть и образуют самостоятельные клады, но четкого разделения нет, поскольку они все встраиваются внутрь филогенетического древа каринат и образуют достаточно короткие ветви.

Для оценки достоверности отличий между популяциями, выделенными с помощью молекулярно-филогенетического анализа фрагмента CO1, мы использовали ранговый критерий Манна и Уитни (*U*-критерий). Преимущества данного подхода заключаются в том, что *U*-критерий, в отличие от  $F_{st}$ -критерия, не зависит от формы распределения и не требует громоздких вычислений. По результатам проведенных вычислений было установлено, что сравниваемые нами группы (Восточная и Юго-Западная) отличаются с вероятностью 99%. Это подтверждает результат, полученный при филогенетическом анализе, проведенном по этому же маркеру.

На филогенетическом древе по ядерной ДНК, *B. carinata* не формируют четко выраженных географических клад. Следует обратить внимание, что *B. rugosa* и *B. dybowskiana* образуют самостоятельные клады и стоят достаточно далеко от *B. carinata* в отличие от митохондриального древа, на котором ругозы и другие сестринские виды фактически не отделяются от каринат. То есть, несмотря на то, что ядерный геном эволюционирует в целом гораздо медленнее митохондриального, встречаются отдельные случаи, когда наблюдаемый уровень полиморфизма в ядерной ДНК оказывается выше, чем в митохондриальной.

Это можно объяснить эффектом «митохондриального подметания». Этот эффект заключается в том, что если в любом митохондриальном гене происходит благоприятная мутация, то гаплотип, несущий эту мутацию, получает преимущество и очень быстро становится преобладающим в популяции, вытесняя другие гаплотипы. Обязательным условием возможности такого «подметания» является отсутствие рекомбинации. Результатом станет снижение уровня наблюдаемого генетического полиморфизма митохондриальной ДНК, тогда как уровень генетического полиморфизма в ядерной ДНК останется прежним.

Таким образом, можно предположить, что появлению форм *B. rugosa* и *B. dybowskiana* способствовали какие-то благоприятные мутации, связанные с изменением образа жизни и произошедшие именно в митохондриальном геноме. Как следствие, снизился уровень генетического полиморфизма мит. ДНК, а полиморфизм ядерного генома остался прежним, что объясняет различное положение *B. rugosa* и *B. dybowskiana* на ядерном и митохондриальном филогенетических древах.

В результате проведенной работы впервые подробно исследована популяционная структура эндемичного байкальского вида *B. carinata*, с помощью методов молекулярного анализа. Установлено внутривидовое подразделение вида на две популяции: Западную и Юго-Восточную. Проведено сравнение между двумя молекулярно-филогенетическими маркерами (митохондриальным геном CO1 и фрагментом некодирующей ядерной ДНК ITS1) по относительной скорости эволюции (скорости накопления замен).



## АНАЛИЗ ПОВЕДЕНИЯ СЕРЫХ КРЫС: ЭФФЕКТЫ ОТБОРА ПО ОБОРОНИТЕЛЬНЫМ РЕАКЦИЯМ НА ЧЕЛОВЕКА И ПЕРЕКРЕСТНОГО ВОСПИТАНИЯ

И.З. Плюснина\*, В.М. Ефимов\*\*

\*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск,

\*\*Институт систематики и экологии животных СОРАН, Новосибирск

В результате длительного отбора диких серых крыс были созданы линии крыс с полным отсутствием (ручная линия) и ярко выраженным проявлением агрессивных реакций на человека (агрессивная линия). Настоящее исследование направлено на описание поведенческого фенотипа и эффектов перекрестного воспитания крыс селекционируемых линий. Изучение поведения ручных крыс – гетерозигот (*Hh*) и гомозигот (*hh*) по *hooded*, и агрессивных – стандартных (*AA*) и гомозигот по *nonagouti* (*aa*) было проведено в различных экспериментальных ситуациях, что позволило оценить множество параметров. Использовались следующие тесты: «открытое поле», социального взаимодействия, «светло-темная камера», в приподнятом крестообразном лабиринте, на неофобию. Проведенный анализ многомерной изменчивости поведения с использованием метода главных компонент показал, что первых пять компонент берут на себя практически 50% общей дисперсии: первая компонента – 18.8%, вторая компонента – 10.9%, третья компонента – 8.32%, четвертая компонента – 6.69% и пятая – 5.32%. Первая компонента, в которую вносят вклад, главным образом, показатели двигательного поведения в незнакомой обстановке, не дифференцирует селекционируемых по поведению линии крыс. Основной вклад во вторую компоненту с отрицательным знаком дают показатели поведения, которые характеризуют реакцию избегания в незнакомой обстановке, а положительный вес во второй компоненте имеет показатель, который ассоциируется с низким уровнем реакции избегания. Вероятно, вторую компоненту по структуре поведенческих характеристик, делающих в нее наиболее высокие положительные и отрицательные вклады, можно определить как фактор, определяющий страх или тревожность. Этот, по-видимому, наиболее важный для отбора фактор четко разделяет агрессивных и ручных крыс. Именно по второй компоненте отмечаются достоверные различия между агрессивными и ручными крысами. Однако влияние генотипа по окраске ни в агрессивной, ни в ручной линии крыс при этом не прослеживается. Это влияние в некоторой степени отражает 3-я компонента. Наблюдаются достоверные различия по значениям этой компоненты между ручными крысами гетерозиготами и гомозиготами по *hooded*. В структуре третьей компоненты преобладающее значение имеют показатели, характеризующие исследовательское поведение. Важно отметить, что выявленные ранее эффекты мутации *hooded* на поведенческие особенности проявлялись именно в повышенной локомоции, которая, по-видимому, имеет исследовательскую мотивационную основу. Полученные данные свидетельствуют о коррелированных с вектором отбора изменениях в поведении и, прежде всего, в эмоциональности и/или тревожности, а также о сложных изменениях во взаимоотношениях между такими признаками как активность, эмоциональность и агрессивность.

По реакции на человека в тесте на перчатку не было обнаружено достоверных влияний перекрестного воспитания, за исключением реакции самцов агрессивной линии, воспитанных ручной матерью, у которых наблюдалось небольшое, но достоверное повышение балла агрессивности. Взрослые ручные и агрессивные потомки, как самцы, так и самки, от собственных матерей и воспитанные приемными матерями не отличались

по поведению в специальном тесте на исследовательскую активность. Однако в тесте на тревожность в светло-темной камере выявлены половые различия в эффектах перекрестного воспитания. Так, суммарное время пребывания в светлом отсеке и число переходов из светлого в темный и обратно увеличивалось под влиянием воспитания приемной матерью у самцов, и не изменялось у самок. В целом, полученные данные свидетельствуют о том, что поведенческие различия, возникшие между крысами селекционируемых линий, в большей степени определяются генетически, а не постанатальными материнскими влияниями.

---

*DROSOPHILA MERCATORUM* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE) В СЕВЕРНОЙ  
ЕВРАЗИИ

Подзоров Р.П., Иванников А.В., Захаров И.К.

*Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск,  
630090, Россия*

Американский вид *Drosophila (Drosophila) mercatorum* Patterson et Weeler 1942 был впервые отмечен в Старом Свете (Португалия) в 60-х годах прошлого столетия. Данный вид является синантропным. На протяжении двух последних десятилетий мы наблюдали интенсивное расселение этого вида на территории России и соседних государств (территория бывшего СССР).

К настоящему моменту можно констатировать следующее: 1. На территории России вид *Drosophila mercatorum* распространен повсеместно в крупных городах. 2. Вид найден нами также в Украине, Казахстане, Таджикистане и Киргизии. 3. Начиная с 1999 года, в популяциях вида повсеместно распространена с высокой частотой (достигающей уровня десятков процентов) морфологическая абберация жилкования крыла – «Фен А».

## НАШИ УЧИТЕЛЯ И СОВРЕМЕННАЯ НЕЙРОБИОЛОГИЯ

Полетаева И.И.

*Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, Россия*

Наши учителя – это в первую очередь Л.В. Крушинский и Д.К. Беляев, и, конечно, М.Е. Лобашев, которого мне, к сожалению, лично знать не довелось.

Оценивая их вклад в развитие нейробиологии спустя столько лет после их ухода, следует, в первую очередь, сказать об интегральном влиянии этих ученых на умы. Мы помним, что в те годы нейрогенетика, как ее называют сейчас, или генетика поведения, как называлось это направление тогда, была, к сожалению, передним краем бессмысленной идеологической конфронтации нормального научного направления с «неизвестно чем». Три научные школы генетики поведения – ленинградская, новосибирская и московская существовали достаточно сплоченно и пытались противостоять оппонентам. Изложить позиции этих оппонентов с точки зрения логики – невозможно. Можно только сказать, что все мы радовались успехам друг друга, и как могли все оказывали друг другу помощь.

Оценивая сегодня вклад Л.В. Крушинского в исследования генетических основ поведения, следует отметить 3 главных положения.

1. Л.В. Крушинский, о работах которого будет рассказано ниже, имел большой опыт практической «генетики поведения» еще с конца 30-х годов, когда он был приглашен консультантом в Институт физиологии им. Павлова (Колтуши) «разбираться» с ходом исследований по генетике поведения собак. Наряду с этим он активнейшим образом работал в питомниках служебных собак.

Исследования Крушинского по генетике поведения собак – это классика мировой науки. Полученные им данные и в настоящее время остаются уникальными, а сделанные им обобщения – весьма перспективными.

Анализ проявления трусости и злобности у собак-гибридов разных пород показал, что пенетрантность и экспрессивность этих признаков поведения в значительной степени определяется уровнем возбудимости ЦНС. Это обобщение, сформулированное в конце сороковых годов XX века, остается актуальным и сегодня.

2. Л.В. Крушинский был первым, кто начал целенаправленную селекцию на такой признак как повышенная судорожная готовность лабораторных крыс. Вместе со своими коллегами и учениками - Л.Н. Молодкиной и Д.А. Флессом - он создал линию крыс, предрасположенных к звуковым эпилептиформным припадкам (судороги в ответ на включение звонка). Эта линия называется линией «Крушинского-Молодкиной» или КМ. Уже вслед за этим была выведена линия белых мышей с аудиогенной эпилепсией (линия Fringes), значительно позже - линии крыс, подверженных аудиогенной эпилепсии – сначала в Аризонском университете в США (линии GEPR-3 и GEPR-9), а потом и в Бразилии (линия WAR). Обобщая данные лабораторных опытов с крысами КМ, Л.В. Крушинский предположил, что судорожный припадок в ответ на звук развивается как следствие взаимодействия процессов возбуждения и торможения в ЦНС. Это еще одно талантливое обобщение, сделанное нашим учителем. Только относительно недавно, в 90-е годы XX века было установлено, что в основе предрасположенности крыс к аудиогенным судорожным припадкам лежат аномалии, как минимум, двух важнейших нейромедиаторных систем мозга - глутамат- и ГАМК-ергической. Линия крыс КМ была одной из первых, если не первая в мире, генетической моделью заболевания человека.

3. Параллельно с работой по исследованию эпилепсии у крыс КМ Л.В. Крушинский и его ученики-коллеги приступили к исследованию элементарной

рассудочной деятельности (ЭРД) животных. Исследования связи между когнитивными способностями животных и особенностями генотипа животных имеют большую историю, из которой в докладе будут кратко освещены следующие положения. Исследования лаборатории Л.В. Крушинского почти сразу после их начала получили «генетический» уклон. Работами М.Н. Сотской и Л.М. Кузнецовой были продемонстрированы достоверные различия в способности к решению задачи на экстраполяцию между дикими и domesticiрованными лисицами, а также между крысами-пасюками и их лабораторными формами. Было также показано, что мыши с некоторыми хромосомными мутациями также обнаруживают достоверно более высокий уровень способности к решению данного теста.

В исследованиях ЭРД domesticiрованных и исходных диких форм млекопитающих очевидна связь и пересечение с работами Д.К. Беляева и его учеников. Эти исследования также входят в золотой фонд классики науки. И до сих пор нет четкого ответа на вопрос – почему же именно domesticiрованные лисицы и крысы менее успешно решают элементарные логические задачи. Естественно, что ответ на «почему», относящийся к разряду «непосредственных» причин (в понимании Н. Тинбергена) – очевиден. Искусственный отбор (доместикация) не поддерживает такие сложные комбинации аллелей, которые определяют высокие способности животного к ЭРД. Однако на вопрос о механизмах, т.е. о непосредственных причинах этого феномена – ответа действительно пока нет. Несмотря на большой прогресс в нейрогенетике, свидетелями которого мы являемся, мы не можем сказать, какие особенности функционирования мозга определяют то, что в пределах одного вида одни особи оказываются умнее, а другие – глупее. Что уж говорить о человеке!

Отметим только, что одним из положений концепции Л.В. Крушинского о физиолого-генетических механизмах ЭРД было предположение, что способность к решению элементарной логической задачи тем выше, чем большее число нервных элементов участвует в этом процессе. На уровне межвидовых сопоставлений это положение было подтверждено еще при жизни Л.В. Крушинского. Наши исследования позволили продемонстрировать его правильность и на внутривидовом уровне – речь идет о сравнении поведения мышей, селектированных на большой и малый вес мозга.

Работа поддержана грантами РФФИ (№ 04-04-48445), РГНФ (№ 06-06- 00351а) и Швейцарского национального научного фонда (№ IB74BO-111081).

## ГИБРИДНЫЕ ЗОНЫ И МИКРОЭВОЛЮЦИЯ

Поляков А.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

Гибридные зоны описаны для многих видов животных и растений. Подразделяя ареал вида на серию субареалов, гибридные зоны не только ограничивают свободу потока генов между популяциями, но и являются дополнительным источником полиморфизма в этих популяциях. Разделяя популяции одного вида и снабжая их дополнительным разнообразием, гибридные зоны могут интенсифицировать процесс видообразования.

## КОРРЕЛЯТИВНЫЕ ПРИЗНАКИ ПРИ СЕЛЕКЦИИ ПО ПОВЕДЕНИЮ

Н.К.Попова, Е.М. Кондаурова.

*Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск.  
Россия*

Несмотря на то, что проблема коррелятивной изменчивости со времен Дарвина вызывает пристальный интерес, механизмы возникновения при селекции коррелятивных признаков все еще во многом неясны, а наиболее распространенное представление о плейотропном действии генов лишено конкретного содержания. Коррелятивные признаки сопутствуют любому виду селекции, но они особенно многочисленны, как это неоднократно отмечал Д.К.Беляев (1962. 1964), при селекции по поведению. Важной особенностью является появление при селекции по одному и тому же типу поведения аналогичных коррелятивных признаков у разных видов животных, что свидетельствует о сходных механизмах их возникновения. В докладе будет обсуждена значимость коррелятивных признаков для селекционного процесса: [1] нейтральные (висячие уши и загнутый хвост у domestikируемых лисиц и у собак), [2], неблагоприятное влияние на фенотип и [3] коррелятивные признаки, представляющие несомненную ценность. Будут проанализированы данные, свидетельствующие о том, что селекция на предрасположенность к каталепсии привела к созданию линии крыс (линия ГК) и мышей (линия ASC), проявляющих выраженное депрессивно-подобное поведение и представляющих новые генетические модели такой распространенной в мире патологии как депрессия.

Будет представлен комплекс доказательств нашей гипотезы (Попова и др.,1980), что одним из механизмов возникновения коррелятивных признаков является вовлечение в селекционный процесс медиаторов мозга, которые, наряду с функцией регуляторов поведения, контролируют эндокринные железы и ряд физиологических функций. Одним из таких медиаторов, определяющих генетически детерминированные различия в предрасположенности к различным стратегиям защитно-оборонительного поведения, является серотонин мозга. Гены, контролирующие ключевые ферменты его синтеза и деградации в мозге (триптофангидроксилаза-2 и моноаминоксидаза А), 5-НТ<sub>1А</sub> и 5-НТ<sub>1В</sub> рецепторы и 5-НТ-транспортер, принадлежат к группе генов, модулирующих агрессивное поведение. Накопленные данные свидетельствуют о вовлечении ключевых элементов метаболизма серотонина и 5-НТ<sub>1А</sub> рецепторов в механизмы перестройки поведения при селекции разных видов животных на высокую и низкую агрессивность. Показано также увеличение концентрации гена 5-НТ<sub>1А</sub> рецепторов в процессе селекции мышей на каталепсию и депрессивность.

## НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ КОРРЕЛЯТЫ КАТАТОНИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ.

Прокудина О.И., Алехина Т.А., Барыкина Н.Н., Колпаков В.Г., Чугуй В.Ф.  
*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

Данная работа посвящена изучению кататонической реакции у крыс. Под кататоническими реакциями понимается либо застывание, либо нецеленаправленное двигательное возбуждение различной степени - от отдельных стереотипных движений до хаотического возбуждения («двигательной бури»). Объединение этих диаметрально противоположных форм поведения в один тип реакции сделано по аналогии с тем, что в психиатрии подобные явления объединены в один - кататонический – синдром, характерный для некоторых психозов (Колпаков и др., 1985; Колпаков, 1990). В природе же кататонические реакции широко распространены и входят в репертуар оборонительного поведения.

Исследование проводилось на крысах линии ГК, генетически предрасположенных к каталептическому застыванию.

В основе настоящей работы лежит следующая проблема: за весь длительный период селекции линии ГК не удалось довести до 100% частоту животных, у которых при тестировании можно вызвать каталептическое застывание. Эта частота варьирует около 50%. С другой стороны, в разных поколениях от половины до 90% животных проявляют поведение, которое мы условно назвали «нервным»: при манипуляциях с ними они совершают пароксизмальные побежки, прыжки, выпрыгивают из клетки, вокализируют. Цель данного исследования состояла в поиске нейрофизиологических коррелятов предрасположенности к каталептическому застыванию и «нервности».

Была проведена дифференциальная селекция на застывание и «нервность» из 55-го поколения линии ГК. У потомства от гомогенных скрещиваний животных, проявляющих тот или иной из этих признаков, были исследованы:

- выраженность каталептической реакции в разных возрастах;
- рефлекс вздрагивания в ответ на акустический стимул;
- содержание моноаминов в отделах мозга и надпочечниках;
- некоторые поведенческие характеристики.

Из полученных экспериментальных данных можно сделать следующие выводы:

- Щипковая каталепсия, застывание в светлом отсеке светло-темной камеры является коррелятом обеих форм кататонической реакции (каталептического застывания и «нервности»).

- Повышенная амплитуда стартл-рефлекса является коррелятом фактора (факторов), определяющих «нервность».

- Сниженное содержание ДА и НА в мозге является коррелятом обеих форм кататонической реакции.

*Работа поддержана грантом РФФИ № 06-04-49003.*



## КОНВЕРГЕНЦИЯ, ПАРАЛЛЕЛИЗМ ИЛИ ЗАИМСТВОВАНИЕ?

Пучковский С.В.

Удмуртский государственный университет. 426034, Ижевск,  
Университетская ул., 1. Россия

Телефон рабочий: +7(3412) 916-073 Факс: +7(3412) 755-866

SVPuch@mail.ru

Среди современных крупных хищных млекопитающих медведей (Ursidae) отличается сравнительно благополучное состояние видов этого семейства (за исключением большой панды). Из них четыре вида всё ещё являются объектами регламентированной охоты. Наиболее многочисленны популяции американского барибала и бурого медведя. Можно предполагать две категории причин относительного благополучия этих видов. Одна из них – эффективные меры управления популяциями этих видов, которые осуществляются на государственном и международном уровнях. Другая категория включает в себя биологические особенности медведей, которые обуславливают их высокую жизнеспособность. Проводится обсуждение некоторых особенностей биологии бурого медведя в сопоставлении с чертами биологической и социальной организации современного человека.

Филогенетическое расхождение отрядов Приматы и Хищные (класс Млекопитающие) произошло ещё в раннем кайнозое (Кэрролл, 1993). На биологическую организацию приматов, включая таксоны, которые могут рассматриваться как предковые для *Homo sapiens* (Ламберт, 1991; Козлова, 2005), очень заметный отпечаток наложил древесный образ жизни. В меньшей степени, но тоже достаточно явный след частично древесного образа жизни прослеживается в организации медведей (Барышников, 2003). Современные бурые медведи сохранили некоторые связи с древесной растительностью.

Бурому медведю свойственна всеядность, сочетающаяся с большой и многоаспектной пластичностью питания (Медведи., 1993). Этот вид имеет очень широкий набор растительных и животных пищевых объектов, включающий разнообразные виды и жизненные формы растений, различные их части; млекопитающих, рыбу, насекомых, дождевых червей, падаль и другие животные корма; рацион бурых медведей может очень сильно варьироваться в разных регионах и ландшафтах, а также в зависимости от доступности и урожая кормов, сезона, возраста зверя и его индивидуальных особенностей, взаимоотношений с человеком и т.д. Всеядность свойственна человеку.

Помимо множества разнообразных трофических связей с экосистемами, бурые медведи имеют и другие категории взаимодействия с многими популяциями, сообществами и физико-химическими ингредиентами экосистем. Экологическая ниша бурого медведя пространственно обширна и структурно очень сложна. Например, популяции бурого медведя островов и побережий северной Пацифики активно включаются в перенос вещества и энергии из океанических экосистем на сушу (Christensen et al., 2005). По широте экологической ниши бурый медведь очень сильно уступает современному человеку, но сама тенденция к формированию множества разветвлённых связей со средой обитания свойственна обоим видам.

Бурые медведи – звери с высоким уровнем рассудочной деятельности, очень сложным и весьма пластичным поведением (Пажетнов, 1990; Крушинский, 1993). Эта биологическая черта коррелируется с обширным ареалом, эвритопностью и эврифагией, способностью к активной охоте на крупных млекопитающих и частично древесным

образом жизни. Аналогичное сочетание биологических черт свойственно человеку современного типа или его предкам.

Хотя нередко бурого медведя относят к группе несоциальных млекопитающих (Bellemain et al., 2006), такая оценка вряд ли достаточно объективна. Для популяций бурого медведя характерна очень высокая степень пластичности социальных отношений (Пучковский, 1993), наличие выраженной иерархии при близких контактах и сигнальных систем для опосредованного общения (Пучковский, 2005). Также популяции этого вида способны к саморегуляции, которая включает в себя каннибализм и инфантицид (Swenson et al., 2001). Популяции человека способны к саморегуляции, но её механизмы у этого вида другие.

Бурому медведю свойственны коммуникативные системы (Seton, 1937; Пажетнов, 1979) и многоаспектная дендроактивность (Пучковский, 1998; 2005). Её наиболее заметное проявление – мечение лесных деревьев, а наиболее хорошо доказанное значение – внутрипопуляционный обмен запаховыми сигналами. Предполагается, что дендроактивность медведей многофункциональна.

Пещеры использовались как убежище доисторическим человеком, а также пещерным и бурым медведями. На стенах пещер обнаружены следы маркировочного поведения пещерного медведя, а также наскальные изображения, выполненные человеком. Современные бурые медведи катаются на пахучем субстрате (влажная глина, почва, политая собственной мочой, падаль, нефть и т.д.), после чего трутся о лесные деревья (маркируют), реже – о другие предметы. Одно из многих направлений живописи прошлого столетия включает в себя нанесение краски на тело человека с последующим контактом запачканного тела с холстом. При этом для медведя важным является запах помеченного объекта, а для человека – зрительно воспринимаемое изображение.

Кратко охарактеризованные черты в биологических и социальных свойствах бурого медведя и человека разумного обнаруживают некоторое сходство двух столь филогенетически далёких и таксономически разных видов. Черты сходства можно счесть следствиями номогенеза (Берг, 1922) и программной природы эволюции биологических и социальных систем (Пучковский, 1994). В этом процессе вероятны разные механизмы: микроэволюционный и онтогенетический, включающие параллельно (независимо) реализуемые поведенческие реакции и вероятное заимствование. Феномены и механизмы направленности динамики биологических и социальных систем достойны внимания учёных и практиков.

## УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ДАРВИНОВСКИЙ ПРИНЦИП СЕЛЕКТИВНОСТИ И СЛОЖНОСТЬ БИОСИСТЕМ: МИКРОЭВОЛЮЦИОННАЯ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКАЯ

Пучковский С.В.

*Удмуртский государственный университет. Ижевск, Россия*

В последние десятилетия обозначился новый всплеск критики в адрес учения Ч.Дарвина о естественном отборе и синтетической теории эволюции (СТЭ). Появление огромного массива научных фактов и новое осмысление прежних материалов способствуют возникновению новых эволюционных концепций или дают дополнительные основания для развития концепций, которые традиционно именуются «недарвиновскими» (Лима-де-Фариа, 1990; Goldsmith, 1990; Назаров, 2005; Попов, 2005; Щербаков, 2005). В этом процессе можно видеть и несомненно положительную тенденцию обогащения эволюционной биологии, и элементы её дальнейшего развития. Однако трудно счесть положительным нагнетание антидарвиновских настроений в российском обществе – процесс, в который включился, в частности, Ю.В.Чайковский (2007). Фоном для названных тенденций является снижение уровня знания современными биологами основ эволюционной биологии (Воронцов, 1999) и авторитета эволюционной биологии во многих сферах российского общества (Пучковский, 2004).

На волне антидарвиновских настроений может сложиться впечатление, что идея естественного отбора, как фактора эволюции, в целом несостоятельна и лишена познавательной ценности. Мною поддерживается и развивается противоположная точка зрения, в соответствии с которой дарвиновская идея отбора имеет универсальное значение и хорошие перспективы для использования в теории эволюции, которую ещё предстоит создать. В данном тексте рассматриваются некоторые аспекты затронутой проблемы, которые либо явно недостаточно отражены в литературе по эволюционной биологии, либо наиболее значимы для обоснования тезиса об универсальности идеи отбора. В более полном виде мои представления о природе отбора высказаны в ряде публикаций (Пучковский, 1990-2006).

Сам Ч.Дарвин признавал важную роль в происхождении видов естественного отбора, не отрицая участия и других эволюционных факторов (1935, с. 116; 583). Последователи Дарвина значительно расширили эту роль отбора, который нередко превращался ими во всемогущий фактор с явно гипертрофированной эволюционной ролью (Любищев, 1975; 1982; Нельсон, 1988; Пучковский, 1994). Синтетизм и синкретизм в понимании эволюционной роли отбора, попытки наделяния его фактически не подтверждёнными функциями породили, как обратную реакцию, сомнения в справедливости СТЭ или даже отрицание эволюционной роли отбора. Для выхода из непростой ситуации полезна выработка элементарного определения отбора, которое было бы свободно от внутренних противоречий и не входило бы в конфликт с имеющимися фактическими данными об эволюции живых систем. Предложен вариант такого определения: **«под отбором понимается процесс микроэволюционной адаптации биосистемы к надсистеме через уменьшение числа избыточных подсистем»** (Пучковский, 1994, с. 70). В соответствии с предложенным определением элементарный акт отбора – это выживание только одной подсистемы и элиминация другой из двух конкурирующих. Семантически уместней писать и говорить не об отборе (или подборе), а о «выборе», как о двуедином процессе. Биосистема, в которой возможен выбор, должна обладать избыточностью (Пучковский, 1998; 1999).

Л.С.Берг (1922) и многие другие эволюционисты находили определённый изъян дарвинизма в следующем: широко принятая со времён Ж.Б.Ламарка идея общей прогрессивной направленности процесса эволюции и усложнения биологической организации вступает в противоречие с элиминирующей ролью естественного отбора, в результате которого снижается разнообразие, например, особей в популяции. На это противоречие указал Ю.А.Злобин (1995) в рецензии на мою монографию (1994). Названное противоречие может быть снято введением понятий **микроэволюционной** и **филогенетической сложности** (Пучковский, 2006). Микроэволюционная сложность популяции, например, будет максимальной на пике численности и генетического разнообразия. Известному эффекту эволюционного бутылочного горлышка, напротив, соответствует низкая численность и обеднённое генетическое разнообразие популяции.

Обзор литературы и её анализ показал (Пучковский, 1994; 2006), что идея выбора не входит в противоречие с эволюционными концепциями мутационизма, нейтрализма, неокатастрофизма, синтезогенетизма, направленности филогенеза и с общим представлением о множественности эволюционных факторов, каждый из которых выполняет своеобразную эволюционную роль. Этот вывод предполагает элементарное толкование отбора, лишённое излишеств синкретизма и синтетизма.

Идея выбора может найти применение в понимании эволюции биосистем любого уровня организации: от макромолекулярного до биосферного. Выбору могут подвергаться подсистемы либо связи между ними. В научной литературе не однажды высказывались мысли о применимости логики отбора к эволюции добиологических систем, эволюции социальных систем и процессу творчества человека.

В социальных системах (включая социальных животных и человека) выбору подвергаются лидеры, места обитания, социальные группы, орудия труда, общественные связи, пути развития, социальные решения и множество других социальных объектов и процессов. Каждый человек в собственной жизни каждодневно и многократно делает свой выбор.

Определённая тривиальность многих из обсуждаемых явлений отбора не должна заслонять важного обстоятельства: правильно понятый системный принцип отбора позволит более адекватно моделировать процессы биологической эволюции, социального развития и развития личности, что облегчит возможность моделирования, прогнозирования и управления этими процессами.

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ КАК ПРИНЦИПИАЛЬНОЕ  
ОГРАНИЧЕНИЕ ДЛЯ РАЗРЕШЕНИЯ ТРИХОТОМИИ ПРИ ПОСТРОЕНИИ  
ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ДЕРЕВЬЕВ НА ПРИМЕРЕ  
СЛОНОВ И МАМОНТОВ (*MAMMUTHUS-LOXODONTA-ELEPHAS*)

Г.С. Раутиан, А.С. Раутиан

Палеонтологический институт РАН, Москва, 117997, Профсоюзная ул. 123

e-mail: [gsrautian@mtu-net.ru](mailto:gsrautian@mtu-net.ru)

В ранних работах (1994-2003 гг.), посвященных изучению нуклеотидных последовательностей мамонта и современных слонов, показано, попарные генетические дистанции между *Mammuthus*, *Loxodonta* и *Elephas* близки друг другу, в связи с чем предлагались все логически мыслимые варианты последовательности расхождения соответствующих филогенетических ветвей: (1) первоначальное расхождение ветвей мамонтов и общего предка современных слонов с более поздним расхождением ветвей африканского и индийского слонов; (2) первоначальное расхождение ветвей африканского слона и общего предка индийского слона и мамонта; (3) первоначальное расхождение ветвей индийского слона и общего предка африканского слона и мамонта; и (4) практически одновременное расхождение всех трех ветвей (что соответствует теории адаптивной радиации). В ранних работах предполагалось, что различия в выводах о последовательности ветвления главным образом связаны с малым объемом имеющегося материала. Недавно получены данные о значительно больших последовательностях ДНК. По полной последовательности митохондриальной ДНК (16 770 пар нуклеотидов) индийский слон и мамонт ближе друг к другу, чем к африканскому слону, причем, принимая время дивергенции линий азиатского и африканского слонов за 6 млн. лет назад, расхождение линий мамонтов и индийского слона было оценено как на 440 000 лет более позднее, чем расхождение их общего предка и ветви африканского слона (Krause et al., 2005). Однако, как это обычно для построения филогенетических деревьев по молекулярным данным, эти расчеты не принимали во внимание полиморфизм предковых и дочерних популяций и фактически рассматривали дифференциацию индивидуальных генотипов, а не генофондов популяций. Вместе с тем, элементарной эволюционирующей единицей является не особь а популяция, и правильно сформулированная задача оценки генетических преобразований в процессе эволюции должна включать в себя не прослеживание изменений отдельных генотипов, а реконструкцию того как генофонд предковой популяции преобразовался в генофонд порожденного ей нового вида и, следовательно, должна включать в себя адекватный анализ внутривидового генетического разнообразия изучаемых форм. Для обсуждаемых элeфантид этот пробел может быть восполнен, используя данные по внутривидовой генетической изменчивости 195 африканских слонов из 21 популяции (Roca et al., 2001). По нашим оценкам время, которое потребовалось бы на расхождение форм, различия между которыми соответствуют средним дистанциям между представителями близких популяций африканских слонов, составляет 510 000 лет (что сравнимо и даже несколько больше, чем приведенная выше оценка различий во времени ветвления - 440 000 лет). Иными словами, внутривидовая изменчивость слонов достаточно высока, чтобы дистанции *Mammuthus-Elephas*, *Mammuthus-Loxodonta* и *Loxodonta-Elephas* оценивать как практически равные, а расхождение филогенетических линий, приведших к этим трем родам, как одномоментное событие. Таким образом, полиморфизм популяций накладывает принципиальное ограничение на возможность выяснения последовательности расхождения трех (или более) ветвей. В общем случае, адекватная оценка внутривидового полиморфизма

и сравнение ее с дистанциями между изучаемыми таксонами позволит выявить и обосновать случаи вероятных адаптивных радиаций.

Работа поддержана РФФИ № 05-04-48493, НШ-6228.2006.4 и программой "Происхождение и Развитие Биосферы".

## ИСТОРИЧЕСКАЯ ЗООГЕОГРАФИЯ ТЕТРАПОД И МОЛЕКУЛЯРНОЕ ДАТИРОВАНИЕ ПОДТВЕРЖДАЮТ НЕОЖИДАННО РАННЕЕ РАСХОЖДЕНИЕ ОСНОВНЫХ СТЕБЛЕВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

А.С. Раутиан<sup>1</sup>, Г.С. Раутиан<sup>1</sup>, С.И. Николаев<sup>2</sup>, С.Е. Антонаракис<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Палеонтологический институт РАН, Москва, 117997, Профсоюзная ул. 123

e-mail: [gsrautian@mtu-net.ru](mailto:gsrautian@mtu-net.ru)

<sup>2</sup>Department of Genetic Medicine and Development, University of Geneva, Switzerland

e-mail: [Sergey.Nikolaev@medecine.unige.ch](mailto:Sergey.Nikolaev@medecine.unige.ch)

Оценки времени дивергенции таксонов млекопитающих на основе сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей существенно отличаются от данных, полученных на основе палеонтологических находок. Это привело к горячим дискуссиям и разнообразным попыткам преодолеть противоречие, главным образом путем введения предположения о резком ускорении скоростей нуклеотидных замен в ряде ветвей филогенетического древа млекопитающих и, тем самым, приближения результатов молекулярного датирования к данным палеонтологической летописи. При этом, однако, существенно переоценивается полнота палеонтологической летописи. Вместе с тем, исследования по глобальной палеозоогеографии тетрапод показали существенную неполноту летописи млекопитающих и позволили существенно удревнить возраст целого ряда высших таксонов по сравнению с временем их обнаружения в ископаемом состоянии (Раутиан, Каландадзе, 1980, 1981, 1983, 1992). В частности, разделение ствола териевых млекопитающих на Metatheria и Eutheria датируется серединой ранней юры (200-190 млн. лет), что соответствует разделению прежде единой суши (пангеи) на северный и южный блоки континентов. Появление ряда современных групп (таких как Xenarthra, Condylarthra, Caviomorpha и Platyrrhini) датировано - не позднее чем изоляция Южной Америки от Северной, которое произошло 130-120 млн. лет. В недавних работах описаны раннемеловые и юрские териевые млекопитающие, что подтвердило существенно более раннее их появление, чем считалось раньше (Rich et al., 1999; Flynn et al., 1999; Rauhut et al., 2002; Ji et al., 2002). Результаты датирования узлов филогенетического древа млекопитающих на основе молекулярных данных зависят от используемого материала, методов обработки данных и реперных дат, однако, они существенно ближе к результатам, полученным на основе географических реконструкций. Например, расхождение ствол сумчатых и плацентарных датируется 120-180 млн. лет. Тот факт, что эти даты моложе, чем географические не удивителен, поскольку они основаны на возрастах обнаружения тех или иных групп в палеонтологической летописи. В действительности расхождение соответствующих ствол всегда происходит несколько (нередко значительно) раньше. Для датировки узлов филогенетического древа млекопитающих мы использовали приведенные выше географические даты и данные ENCODE для 18 видов млекопитающих, представляющих основные современные таксоны надотрядного ранга, по последовательностям, соответствующим 1% генома человека (Margulies и другие., 2006). Для сравнения в анализ включены курица и шпорцевая лягушка. Датирование узлов филогенетического древа, полученного на основе этих молекулярно-генетических данных, показало значительно более ранние возраста расхождения всех групп плацентарных млекопитающих, чем были получены в аналогичных исследованиях, использующих в качестве реперных дат данные палеонтологической летописи. В отношении оценки времени расхождения таксонов географический и молекулярно-генетический подходы имеют много общего, поскольку отражают потерю связи между

дочерними таксонами, но не их морфо-функциональные и экологические характеристики. Напротив, обнаружение той или иной группы в ископаемом состоянии находится в прямой зависимости от уровня ее биологического прогресса, т.е. численности отдельных видов и обилия таксонов в данной группе. Иными словами, палеонтологу удастся непосредственно исследовать лишь периоды истории отдельных групп, соответствующие их расцвету, тогда как становление и раннее развитие остаются вне поля непосредственного исследования и могут быть оценены только косвенными методами. В этом отношении интересно, что оценки времени расхождения диапсид и синапсид, а также амфибийного и рептилийного стволов на основе этих же зоогеографических реперов лишь на несколько процентов отличаются от оценок, полученных на основе прямых находок представителей соответствующих групп. Аналогично, молекулярные датировки, полученные на основе времени расхождения синапсидных и диапсидных рептилий (Kumar and Hedges, 1998), ближе всего к зоогеографическим. Эти данные хорошо согласуются с представлениями о том, что большую часть своей истории млекопитающие существовали в тени других более успешных групп и достигли высокой численности и разнообразия на относительно поздних этапах эволюции, и потому до этого времени значительно хуже представлены в палеонтологической летописи, чем другие группы тетрапод.

Работа поддержана РФФИ № 05-04-48493, НШ-6228.2006.4 и программой "Происхождение и Развитие Биосферы".



## СТРЕСС – КАК ФАКТОР, СОХРАНЯЮЩИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ПОПУЛЯЦИЙ ПО ГЕНАМ, РЕГУЛИРУЮЩИМ УРОВЕНЬ СТРЕСС- СВЯЗАННЫХ ГОРМОНОВ

И.Ю. Раушенбах, Н.Е. Грунтенко, Е.В. Богомолова, Н.А. Ченцова  
*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

У взрослых насекомых, *Drosophila* в том числе, стресс-связанными (отвечающими стандартными изменениями на действие стрессоров различной природы) являются гонадотропины, ювенильный гормон (ЮГ) и 20-гидроксизекдизон (20Э), и биогенные амины, октопамин (ОА), дофамин (ДА) и, у некоторых видов, серотонин. Изменения уровней этих гормонов при стрессе способствуют адаптации индивидуумов и популяций: повышение содержания биогенных аминов обеспечивает увеличение энергетического метаболизма особи, подвергающейся действию стрессора, повышение титра ЮГ вызывает прекращение откладки яиц, позволяя популяции «переждать» неблагоприятные условия без значительной потери потенциальной численности, повышение титра 20Э адаптивно при перенаселении или снижении пищевых ресурсов, поскольку вызывает снижение плодовитости. Здесь мы приводим данные, демонстрирующие, что сохранение в популяциях особей с измененными в результате мутаций базальными уровнями стресс-связанных гормонов, снижающими их приспособленность в нормальных условиях, обусловлено преимуществом, в жизнеспособности и плодовитости, которое приобретают мутанты в стрессирующих условиях различной природы.

Проведя мониторинг природных популяций дрозофилы по уровню метаболизма ЮГ, мы обнаружили, что в них с большой частотой встречаются самки со сниженным уровнем деградации ЮГ (повышенным титром гормона). Исследовав плодовитость линий *D. virilis* и *D. melanogaster* несущих такие мутации мы установили, что мутантные самки характеризуются сниженной плодовитостью в нормальных условиях, но значительно скорее, чем особи дикого типа преодолевают негативные последствия теплового стрессирования на их плодовитость.

В природных условиях достаточно часто встречаются меланистические формы насекомых с повышенным в результате мутации уровнем ДА. Мы исследовали жизнеспособность особей (*D. virilis* и *D. melanogaster*), несущих мутации, повышающие уровень ДА, в нормальных условиях и при действии стрессоров различной природы и установили, что мутанты характеризуются сниженной, по сравнению с диким типом, жизнеспособностью при действии высокой температуры, но значительно лучше выживают при голодании.

Таким образом, полученные нами результаты подтверждают представления Д.К.Беляева (1979) о важной роли стресса “в определении векторов отбора и в эволюционном процессе”.

Работа поддержана грантами РФФИ №№ 04-04-48273, 06-04-48357, 07-04-00194

## Д.К.БЕЛЯЕВ И РАЗВИТИЕ ГЕНЕТИКИ В КАЗАХСТАНЕ

Рахметкажи И.Берсимбаев, академик НАН РК

*Институт общей генетики и цитологии*

*Казахский национальный университет им.Аль-Фараби, Алматы, Казахстан*

Академик Дмитрий Константинович Беляев сыграл огромную роль в развитии генетических исследований и совершенствовании генетического образования в Казахстане. Как известно, сразу же после реабилитации генетики в Советском Союзе, в 1966 г. было создано Всесоюзное общество генетиков и селекционеров (ВОГиС) им. Н.И.Вавилова. Будучи председателем Научного совета по проблемам генетики и селекции при Президиуме Академии наук СССР и вице-президентом ВОГиС Д.К.Беляев проводил заседания совета не только в Москве и Ленинграде, но и организовывал выездные совместные заседания пленумов Научного совета и Центрального совета ВОГиС в столицах союзных республик – Киеве, Минске, Риге, Алма-Ате, Ташкенте и др.

Одной из важных задач ВОГиСа и Научного совета по проблемам генетики и селекции Дмитрий Константинович считал объединение усилий генетиков в развитии генетико-селекционных исследований в союзных республиках. С этой целью Д.К.Беляев побывал во многих республиках: Казахстане, Таджикистане, Белоруссии, Азербайджане, Узбекистане, помогая в создании местных обществ генетиков и селекционеров, целью которых было заслушивание на своих регулярных заседаниях отчеты руководителей по проводимым научным исследованиям, оказание помощи генетикам и селекционерам в выборе научных направлений исследований и обсуждение проблем преподавания генетики в вузах.

Е.Т.Васина-Попова, которая работала в те годы ученым секретарем Научного совета, в своих воспоминаниях отмечает, что осенью 1968 г. в Алма-Ате проходил очень оживленно и продуктивно заседание Пленума Научного совета по проблемам генетики и селекции совместно с ВАСХНИЛ, министерствами сельского хозяйства СССР и Казахской ССР. На пленум приехали видные ученые-генетики и селекционеры из разных городов Советского Союза и многих союзных республик. Дмитрий Константинович выступил с докладом на тему «Биологические аспекты domestikации животных». И именно на этом совещании Д.К.Беляев впервые подробно изложил свою концепцию дестабилизирующего отбора и его роли в эволюционном процессе.

Участники пленума во главе с Д.К.Беляевым посетили тогда Институт экспериментальной биологии АН КазССР, КазНИИ овцеводства, Казахский институт животноводства, ряд овцеводческих племенных хозяйств, павильон животноводства Выставки народного хозяйства Казахской ССР, познакомились с постановкой работы по генетическим основам селекции животных в научных учреждениях и опытно-экспериментальных хозяйствах Казахстана. Ознакомление Дмитрия Константиновича и других ученых гостей с результатами практической селекции, новыми породами животных, методами их создания, заинтересованное участие в обсуждении методов и результатов работ казахстанских ученых по совершенствованию и созданию новых пород животных способствовало активному развитию исследований по генетике животных в Республике. Работа пленума была результативной не только для ученых, но и для руководящих работников Академии наук Казахской ССР, Министерства сельского хозяйства Республики, курирующих организацию и развитие биологических и сельскохозяйственных научных исследований в Республике.

В конце 60-х годов на заседании президиума АН СССР Д.К.Беляев выступил с программным докладом «О состоянии генетики в СССР». К подготовке и обсуждению

этого доклада он приглашал всех активно работавших генетиков и селекционеров, в том числе и научных учреждений и вузов союзных республик. В постановлении президиума было отмечено: «Поручить Научному совету АН СССР по проблемам генетики и селекции усилить помощь генетическим учреждениям союзных республик».

Под руководством Д.К.Беляева в 1974 г. была разработана Государственная программа исследований по проблеме «Генетические основы селекции и создания новых сортов растений и пород животных» на период с 1976-1990 гг. с указанием конкретных научных направлений, их руководителей и учреждений, где эти работы должны выполняться. В рамках выполнения этой программы во многих научных и селекционно-генетических учреждениях Казахстана (Институт экспериментальной биологии, Институт ботаники, Институт микробиологии и вирусологии, Институт овцеводства, Институт животноводства, КазНИИ земледелия, Институт зернового зозайства и др.), опытно-селекционных станциях и кафедрах вузов республики активно проводились научные исследования по разработке и совершенствованию генетических методов селекции растений, по генетике и генетическим основам селекции животных, по генетике микроорганизмов и др. Исследования по ряду актуальных направлений современной генетики продолжают развиваться и в настоящее время в научных учреждениях и вузах республики, в том числе в новом Институте общей генетики и цитологии, организованном в 1995 г. Постановлением Правительства Казахстана.

Второй раз выездное заседание Научного совета по проблемам генетики и селекции АН СССР под руководством Д.К.Беляева в Казахстане проходило в октябре 1984 года в г. Алма-Ате. В работе пленума принимали участие многие генетики Советского Союза. При подведении итогов совещания Дмитрий Константинович отметил успехи ученых Республики в области генетики и селекции растений, генетики микроорганизмов и генетики и селекции животных. Обратил особое внимание на подготовку специалистов генетиков в вузах республики и на актуальность научных исследований для Казахстана в области генетики человека и молекулярной генетики.

Я учился в Новосибирском государственном университете в 1964-1969 гг. и моя учеба в университете совпала по времени с возрождением генетики в стране. Нам преподавали крупные ученые, которые стояли у истоков развития многих направлений генетики в Советском Союзе. Д.К.Беляев читал общий курс генетики первому набору студентов медико-биологического отделения факультета естественных наук. Нашему потоку курс генетики читал известный генетик, профессор Ю.Я.Керкис, курс цитогенетики – профессор В.В.Хвостова, эволюционное учение – профессор Р.Л.Берг.

В Институте цитологии и генетики я выполнял дипломную работу, проходил аспирантскую подготовку и после окончания аспирантуры до переезда в Алма-Ату в течение трех лет с 1972 по 1975 гг. работал младшим научным сотрудником лаборатории молекулярной генетики. Светлана Владимировна Аргутинская была научным руководителем моей дипломной работы и кандидатской диссертации. В годы учебы в аспирантуре, работы в Институте и позже мне посчастливилось общаться неоднократно с Дмитрием Константиновичем не только в его рабочем кабинете в Институте, но и дома. Академик Д.К.Беляев внешне казался очень строгим человеком, но дома он был очень доступным собеседником, и с ним можно было говорить и обсуждать любые проблемы. С чувством особой гордости и восхищения я всегда вспоминаю его дружелюбные и очень теплые беседы со мной. Дмитрий Константинович оставил у меня неизгладимое впечатление о себе широтой своих взглядов, простотой и обаятельностью, он был истинным приверженцем интернационального содружества ученых.

Д.К.Беляев всегда интересовался вопросами подготовки кадров в области генетики в Казахстане и оказал неоценимую помощь в постановке и совершенствовании генетического образования в нашей Республике. Сразу же после того как я стал работать заведующим кафедрой генетики в Казахском государственном университете (ныне КазНУ им.Аль-Фараби) в Алма-Ате, в один из моих научных командировок в

Новосибирск, Дмитрий Константинович очень подробно расспрашивал меня о преподавании курса генетики в университете и предложил организовать чтение курса общей генетики с широким применением специальных генетических и цитологических больших практикумов. По его указанию из генетического фонда ИЦиГ кафедре генетики КазНУ были переданы линейные мыши, крысы, линии дрозофилы для использования в учебных и научных целях. Позднее на нашей кафедре в КазНУ была создана уникальная коллекция линий дрозофилы, имеющая в своем составе как ценные мутантные линии для проведения генетического анализа, так и онковирус-индуцированные опухолевые мутации для использования в научных целях по изучению проблем нестабильности генома. В настоящее время фонд линий дрозофилы кафедры широко используется для проведения большого генетического практикума не только в Казахском национальном университете, но и в других вузах республики. В этой связи важно отметить, что кафедра генетики и молекулярной биологии КазНУ им.Аль-Фараби является сегодня ведущим образовательным и научным центром Республики, осуществляющим подготовку специалистов в различных направлениях современной генетики. Кафедра осуществляет подготовку специалистов по общей и молекулярной генетике, генетике и селекции растений, генетике человека, биотехнологии растений и животных. Кафедра выпустила более 600 специалистов-генетиков и в настоящее время осуществляет подготовку квалифицированных кадров по прямым связям с научно-исследовательскими учреждениями республики генетико-селекционного и биотехнологического профилей.

Имя Дмитрия Константиновича Беляева, выдающегося ученого- генетика и крупного организатора науки и высшего биологического образования, внесшего неоценимый вклад в развитие генетических исследований и генетического образования в республике прекрасно знают и помнят в Казахстане.

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДЕТЕРМИНАЦИИ ЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА НА МОДЕЛИ КРЫС НИСАГ С НАСЛЕДУЕМОЙ ИНДУЦИРУЕМОЙ СТРЕССОМ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

О.Е. Редина, С.Э. Смоленская, А.Л. Маркель

*Институт цитологии и генетики, СО РАН, Новосибирск, Россия*

В результате проведения отбора на повышение артериального давления (АД) в условиях эмоционального стресса в Институте цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск) была создана линия крыс НИСАГ с наследуемой индуцируемой стрессом артериальной гипертензией. Крысы линии НИСАГ достоверно отличаются от нормотензивных контрольных крыс (линия WAG.- Wistar Albino Glaxo) по уровню АД в покое и под действием эмоционального стресса, по весовым характеристикам, по уровню кортикостерона в плазме крови, а также по поведению в тесте открытого поля.

Для определения генетических локусов, контролирующих особенности проявления вышеперечисленных признаков у крыс НИСАГ, проводили QTL анализ. Исследовали две популяции самцов гибридов F<sub>2</sub> разного возраста (3-4 месяца (n=106) и 6-и месяцев (n=130)), полученных при скрещивании гипертензивных крыс НИСАГ и нормотензивных крыс WAG. Анализ проводили по 23-м признакам в молодой популяции крыс и по 27-и признакам во взрослой популяции (Таблица 1). Для сканирования генома использовали микросателлитные маркеры из баз данных: <http://ratmap.gen.gu.se/SearchLocus.html> и <http://www.genome.wi.mit.edu>. Точное положение маркера на хромосоме определяли по базе данных [http://www.ensembl.org/Rattus\\_norvegicus/index.html](http://www.ensembl.org/Rattus_norvegicus/index.html). Маркеры подбирались по возможности равномерно по всей длине хромосомы на расстоянии 15-20 Mb (мегабаз). 122 маркера продемонстрировали межлинейный полиморфизм и внутрилинейную гомогенность и были использованы для анализа обеих популяций крыс гибридов F<sub>2</sub>. Результаты QTL анализа по распределению генетических локусов, контролирующих признаки, по хромосомам представлены в Таблице 1.

Таблица 1 Распределение генетических локусов, контролирующих признаки, по хромосомам

|    | Признак                                                     | Хромосома                 |                         |
|----|-------------------------------------------------------------|---------------------------|-------------------------|
|    |                                                             | F <sub>2</sub> (3-4 мес.) | F <sub>2</sub> (6 мес.) |
| 1  | базальное АД (мм.рт.ст.)                                    | 11                        | 1*                      |
| 2  | АД при стрессе (мм.рт.ст.)                                  | 10                        | 1*                      |
| 3  | прирост АД                                                  | 15 X                      |                         |
| 4  | вес тела (г)                                                | 1*                        | 15 X                    |
| 5  | вес надпочечников (мг)                                      | 1 X                       | 6* 9                    |
| 6  | относительный вес надпочечников (мг/100г веса тела)         |                           | 11                      |
| 7  | вес почек (г)                                               | 1 5 16                    | 4 6 15                  |
| 8  | относительный вес почек (г/100г веса тела)                  | 1* 7* 11<br>12* 16        | 1 2 6<br>7              |
| 9  | вес сердца (г)                                              |                           | 4                       |
| 10 | относительный вес сердца (г/100г веса тела)                 | 1*                        | 3 6 X                   |
| 11 | базальная концентрация кортикостерона в плазме крови (мкг%) |                           | 7                       |

|    |                                                                                                            |          |              |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|--------------|
| 12 | концентрация кортикостерона в плазме крови при стрессе (мкг%)                                              | 16       | 6 9          |
| 13 | прирост концентрации кортикостерона в плазме крови при стрессе (мкг%)                                      |          | 6 9          |
| 14 | двигательная активность в первую мин первого теста открытого поля (число пересеченных квадратов, шт.)      | 16*      | 18 1 5 11    |
| 15 | двигательная активность на периферии площадки открытого поля (сумма пересеченных квадратов за 4 теста, шт) | 2* 5 16* | 5 8          |
| 16 | двигательная активность в центре площадки открытого поля (сумма пересеченных квадратов за 4 теста, шт.)    | 2 17     | 3 5 X        |
| 17 | груминг на периферии площадки открытого поля (число актов груминга за 4 теста, шт.)                        | 9        | 4            |
| 18 | вставание на задние лапы (rearing) на периферии площадки открытого поля (число вставаний за 4 теста, шт.)  | 5 16*    | 18           |
| 19 | общее время груминга на периферии площадки открытого поля (сумма за 4 теста, сек)                          | 7 18     | 1 4 X        |
| 20 | общее время стояния на задних лапах на периферии площадки открытого поля (сумма за 4 теста, сек)           | 5 7 16   | 5 18         |
| 21 | общее время стояния на задних лапах в центре площадки открытого поля (сумма за 4 теста, сек)               | 14       | 18           |
| 22 | величина дефекации (количество шариков за 4 теста, шт.)                                                    | 16       | 2* 12<br>14* |
| 23 | латентный период (время от помещения на площадку до начала локомоции, сумма за 4 теста, сек)               | 5 11     |              |
| 24 | концентрация дофамина в гипоталамусе (мкг%)                                                                |          | 11           |
| 25 | концентрация дофамина в продолговатом мозге (мкг%)                                                         |          | 4 8*         |
| 26 | концентрация норадреналина в гипоталамусе (мкг%)                                                           |          | 4 14 X       |
| 27 | концентрация норадреналина в продолговатом мозге (мкг%)                                                    |          | 1 3          |

\* P<0.001, LOD score >3.0;

Без звездочек приведены локусы, которые содержат гены, контролирующие соответствующие признаки, с вероятностью P<0.01.

Полученные данные подтверждают, что отбор на повышение АД при эмоциональном стрессе у крыс линии НИСАГ привел к изменениям в деятельности различных органов и систем. Как показывают результаты QTL анализа, эти изменения

контролируются многими генетическими локусами. При этом генетический контроль признаков находится в зависимости от возраста животных.

*Работа поддержана грантами РФФИ 05-04-48567, 05-04-48107.*

## СОЦИАЛЬНОЕ ОБУЧЕНИЕ И АДАПТИВНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПОПУЛЯЦИЙ

Резникова Ж.И..

*Институт систематики и экологии животных СО РАН и Новосибирский  
государственный университет, Новосибирск, 6300901, Россия  
zhanna@reznikova.net*

Социальное обучение основано на способности животных к приобретению опыта, связанного с взаимодействием с другими особями, и включает разные формы поведения: от простых (таких как “социальное облегчение” - высвобождение определенных форм активности в присутствии конспецификов) до сложных ( “инструктирование”, нередко лежащее в основе формирования “культурных традиций” в популяциях). Важная роль этих форм поведения в системе адаптаций давно осознавалась эволюционистами, экологами и зоопсихологами (Вагнер, 1913, Северцов, 1922, Наумов, 1948, 1973, Мантейфель, 1970, Krebs, Davies, 1978). Социальное обучение расширяет адаптивные возможности популяций в меняющейся среде, вовлекая “сигнальную наследственность” (Лобашев, 1961) в процессы освоения животными новых возможностей, которые могут быть связаны изменениями климата, ландшафтов, появлением незнакомых видов пищи и новых врагов. В докладе анализируются современные данные о роли социального обучения в эволюции поведения животных. Впервые рассматривается роль активного инструктирования в совершенствовании видовых стереотипов поведения. Обсуждается новая форма социального обучения, впервые описанная автором и названная “распределенным социальным обучением”.

Согласно экспериментальным данным последних лет, социальное обучение играет важную роль в таких важных аспектах естественной жизни животных как выбор диеты (в частности, преодоление неophobia), избегание хищников, выбор полового партнера. Среди различных форм социального обучения наибольшее внимание привлекает феномен “культурных традиций”, основанных на распространении и сохранении инноваций. Выявлены “локальные культуры” у нескольких видов обезьян (Whiten et al., 1999; Huffman, Nishie, 2001), птиц (Lefebvre et al., 1997) и китообразных (Rendell, Whitehead, 2001). Важно отметить, что во многих случаях, когда в популяциях удавалось впервые отметить инновационное поведение, появление инноваций можно было бы предсказать, исходя из резкого изменения условий среды, таких, как сокращение пищевой базы или вынужденные миграции.

Сложные формы социального обучения, такие как имитация, традиционно рассматриваются как один из критериев когнитивной деятельности. При этом в последние годы наметилась тенденция обнаруженным феноменам присваивать “высшие категории”. Так, простой способ мобилизации муравьев на источник пищи с помощью бега тандемом квалифицируется как “учительство у муравьев” (Franks, Richardson, 2006). Орудийная деятельность новокаледонских галок трактуется как феномен культуры (Hunt, Gray, 2003), основанной на активном инструктировании, хотя роль врожденных компонент в развитии этой формы поведения до конца не выяснена. Следует, однако, отметить, что инновации распространяются в “вязкой” среде носителей видотипических стереотипов поведения. Это ставит под вопрос возможность устойчивого сохранения новых стереотипов поведения. Требуется специальное исследование механизмов распространения новых для популяций форм поведения. Возникает предположение, что феномены “животной культуры” во многих случаях можно объяснить с привлечением более простых, чем активное инструктирование, форм социального обучения. Для этого



предлагается привлечь феномены видотипической предрасположенности к выполнению определенных комплексов фиксированных действий.

Представляется актуальной задача поиска универсальных форм социального обучения, включающих компоненты как инновационного, так и генетически обусловленного поведения. К таким формам можно отнести “распределенное социальное обучение”, впервые выявленное при экспериментальном исследовании развития охотничьего поведения в имагинальном онтогенезе муравьев (Резникова, Пантелеева, 2005). У небольшой (около 10%) части популяции стереотип охоты на сложно уловимую добычу проявляется по принципу “все и сразу”, на долю других охотников остается длительное, многоступенчатое формирование охотничьего поведения. Наши эксперименты позволяют предположить, что для распространения в социальной группировке сложных поведенческих стереотипов достаточно присутствия немногочисленных носителей целостных комплексов фиксированных действий и некоторой доли носителей “спящих” поведенческих фрагментов. Эти фрагменты достраиваются до целостных стереотипов на основе реакций подражания и индивидуального опыта животных. Данное явление, возможно, является широко распространенным среди животных. В пользу этого предположения говорит, в частности, недавнее исследование онтогенетического развития орудийного поведения у новокаледонских галок. Было получено сходное с нашими результатами соотношение между количеством индивидуумов - носителей наследственно обусловленного сложного поведенческого стереотипа (применение орудий для добывания пищи) и числом особей, у которых достройка видотипического поведения основана на социальном обучении (Kenward et al., 2005).

Наш подход позволяет объяснить поведение животных без привлечения феномена “орудийной культуры” у галок и тем более - “учительства” у муравьев. Если в сообществе присутствуют носители целостных поведенческих стереотипов, то у носителей “спящих” фрагментов этих стереотипов их достройка до целостной поведенческой модели может происходить за счет простых форм социального обучения. Таким образом, адаптивные возможности популяций могут быть расширены достаточно “экономичным” путем. Выявленные нами поведенческие индикаторы распределенного социального обучения открывают возможности для изучения генетических механизмов распределения поведенческих стереотипов в популяциях животных.

## РОЛЬ КРИТИЧЕСКИХ ПЕРИОДОВ ОНТОГЕНЕЗА У НАСЕКОМЫХ В ПРОЯВЛЕНИИ ЭФФЕКТА ТРАНСГЕНЕРАЦИИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ

Е.С. Салтыкова, Л.Р. Гайфуллина, А.Г. Николенко

*Институт биохимии и генетики УНЦ РАН,*

*450054, Уфа, проспект Октября 71, ИБГ*

*e-mail: saltykova-e@yandex.ru*

Темпы эволюционного развития насекомых оказались настолько высокими, что почти 90% современных видов животных принадлежит этому классу. Большой успех насекомых обусловлен многими факторами, в том числе эффективными механизмами адаптации к неблагоприятным внешним условиям, включая развитие иммунной системы. Данные механизмы, способствуя биологическому прогрессу этой группы членистоногих, сами служили объектом для эволюционных преобразований. Значительную роль в данном процессе могут играть критические периоды онтогенеза насекомых. Целью данной работы было выявить критические периоды онтогенеза, являющимися особо чувствительными к внешним воздействиям, и их роль в приобретении долговременной устойчивости к действию бактериального препарата.

На основании полученных предварительных данных на насекомых с полным типом превращения в опытах с аскорбиновой кислотой, как регулятора фенолоксидазной и антиоксидантной активности, можно определить время перед линькой и сразу после линьки с одного личиночного возраста или с одной стадии развития на другое особо чувствительным или критическим периодом развития онтогенеза. Воздействием битоксибациллина (БТБ) на насекомых в эти периоды развития, определяли особенности формирования ответной реакции компонентов антиоксидантной и фенолоксидазной систем в разных органах и тканях на последующих онтогенетических стадиях, электрофоретическую активность фенолоксидаз и физиологические параметры. Было отмечено, что при воздействии на ранних сроках развития личинок, активность тирозиназы и пероксидазы в основном преобладает над активностью других показателей на последующих стадиях онтогенеза. При действии БТБ на 6-ти суточных личинок довольно высокий уровень активности данных показателей приходится в последствии у односуточных куколок. При воздействии на 8-ми суточных личинок уровень активности основных показателей данных комплексов ферментов сильно снижен во многих органах и тканях на последующих стадиях онтогенеза. Особенно, по-видимому, сказывается снижение активности тирозиназы на стадии пупария, что может привести к снижению выживаемости насекомых. Воздействуя на личинок мух перед линькой на куколку, можно отметить более высокую активность ферментов в дальнейшем на стадии 4-х суточных пупариев. При определении электрофоретической активности фенолоксидаз в данном эксперименте можно отметить появление дополнительно индуцированных зон в катодной части геля при воздействии БТБ на личинок в возрасте 3-х и 10-ти суток и отсутствие данных изоформ при воздействии на 8-ми суточных личинок. При обработке на этом сроке развития можно отметить увеличение продолжительности развития личинок и пупариев, снижение веса пупариев, количества окуклившихся личинок и образовавшихся имаго, у данных имаго также была снижена плодовитость. Опираясь на экспериментальный материал полученный на комнатной мухе и колорадском жуке, можно охарактеризовать принцип формирования долговременной и кратковременной иммунологической памяти в онтогенезе насекомых с учетом основных и критических периодов развития. Если воздействие патогеном приходится на узковременные предлиночные и послелиночные периоды развития организмов то формируется в

основном долговременная иммунная память с преобладанием сформировавшихся специфических компонентов иммунитета, которая сохраняется на последующих стадиях онтогенеза. При воздействии на основные периоды онтогенеза формируется кратковременная иммунная память, реализующаяся за счет преобладания неспецифической реакции. Возможный механизм формирования долговременной памяти можно представить следующим образом, довольно крупные молекулы пептидов в момент метаморфоза фагоцитируются гранулированными клетками, которые в процессе метаморфоза прикрепляются к нейрогемальной ткани или покровам, затем готовые макромолекулы высвобождаются гемоцитами и используются в дальнейшем по назначению (Nardi, 2000; Nappi, 2002). Таким образом, информационный материал расходуется очень экономно, нет необходимости сначала полностью разрушать некоторые молекулы, а затем их снова синтезировать. Охарактеризовать взаимодействие основных и критических периодов онтогенеза можно следующим образом. Основные периоды бывают длинными и характеризуются совершенствованием способов взаимодействия со средой, однако сами способы принципиально не меняются. В недрах этого этапа зарождается следующий способ взаимодействия со средой. Критические периоды онтогенеза кратковременны, характеризуются появлением первых признаков начала активного взаимодействия организма с новым фактором среды на новом уровне внешних и внутренних реакций (Светлов, 1964). Какова же роль критических периодов в эволюции адаптационного генеза? По мнению Л.И. Корочкина (2002) к крупным изменениям в структуре и физиологии, совместимым с жизнью, организм может приспособиться лишь в процессе раннего развития, то есть у насекомых это стадии эмбриогенеза или личинки, когда происходит формирование каких-либо органов или организация функциональных систем. Значительные перестройки вызываются мутациями генов-селекторов, высокой активностью транспозонов и мутациями генов системного уровня организации (гормональной, иммунной, нервной и т.п.). Новые внешние факторы воздействуют непосредственно на онтогенез особей и вызывают появление значительного числа необычных фенотипов – морфозов (Гродницкий, 2002). Эпигенетическая теория предполагает, что эволюционное изменение начинается, когда популяция попадает в непривычные условия существования.

В конце 2004 года в журнале *Nature* появилось сообщение швейцарских исследователей об открытии передачи приобретенного иммунитета у шмелей по наследству. Однако механизмы данного феномена им были неизвестны, как они предполагали в реализации его могут быть задействованы какие-либо ферменты. Мы несколько ранее также в своих экспериментах продвигались в данном направлении. При воздействии на личинок мух БТБ был использован в минимально воздействующей концентрации, чтобы сохранить воздействие на насекомых и не привести к высокой смертности, исключая фактор отбора устойчивых особей. Воздействуя БТБ на родительское поколение мух однократно в критические периоды онтогенеза, получили на электрофореграммах новые индуцированные зоны с фенолоксидазной активностью у двух последующих поколений насекомых без дополнительных воздействий бакпрепаратом. Также наблюдали многократно увеличенную ферментативную антиоксидантную и фенолоксидазную активность в гемолимфе, покровах, головном отделе и в отдельных случаях в жировом теле. Данные изменения наблюдали в последующих поколениях на той стадии развития, на которой произошло воздействие патогенным фактором в родительском поколении, что может предполагать задействованность каких-либо эпигенетических механизмов. При этом без дополнительной стимуляции наблюдаемые изменения поддерживались в двух последующих поколениях мух физиологические показатели. Индуцированная в критические периоды онтогенеза активность факторов гуморального иммунитета у личинок насекомых воспроизводится не только на последующих этапах онтогенеза,

подтверждая наличие долговременного иммунитета, но также в последующих двух поколениях на той же стадии развития насекомого без дополнительного воздействия.

## ВОЗМОЖНАЯ РОЛЬ БРАЧНЫХ ПРЕДПОЧТЕНИЙ В ПОДДЕРЖАНИИ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИИ.

Семёнов Д.А.

*Международный научный центр исследований экстремальных состояний  
организма при Президиуме Красноярского научного центра СО РАН. Красноярск.  
[dasem@mail.ru](mailto:dasem@mail.ru)*

В 80-х годах 20-го века красноярским энтомологом В.В. Киселёвым была обнаружена неслучайность формирования пар у жуков-короедов. Эти данные тогда не были проинтерпретированы. Между тем, именно для данных насекомых важным оказывается поддержание оптимальной численности группы особей заселяющих одно растение: малая группа не справится с антибиозной реакцией растения, а большая не оставит корма следующему поколению. Результат опыта Киселева позволяют предположить, что брачные предпочтения могут использоваться для контроля размера группы.

Предлагаемая модель заключается в том, что в популяции существует одновременно несколько *типов* самцов (например), и в группе селятся только самцы разного типа. Между «идентичными» самцами по-прежнему существуют конкурентные взаимоотношения, а на уровне группы существует кооперативность, выражающаяся в поддержании оптимального размера группы при минимальных затратах на конкуренцию. Для насекомых наиболее очевидно, что отличия должны быть предопределены генетически. Для поддержания равной доли каждого типа самцов в популяции в каждом поколении необходимо, чтобы самка при выборе пары руководствовалась генотипом самца.

Описанная выше простая модель не может быть реализована, если признаки, по которым отличаются самцы, наследуются по классической менделевской схеме. Несколько лучше такая модель реализуется в предположении гетерозиса по указанным признакам, но и тут невозможно реализовать воспроизводство произвольного числа «типов». Все генетические ограничения преодолеваются при использовании генов главного комплекса гистосовместимости (ГКГ).

Подбор брачных пар может регулировать не только размер группы, но и плотность численности, а также иерархическую структуру популяции. При этом каждый раз реализуется возможность минимизировать конкуренцию между особями, что в свою очередь можно рассматривать как проявление кооперативности. Так Конрадом Лоренцом приводятся примеры того, что бойцовые рыбки не нападают на постоянных соседей (Лоренц, 1998). Таким образом, роль иммунной системы (ГКГ) в механизме брачных предпочтений выводится из представлений о начальной роли иммунитета в дифференцировке, морфогенезе и поддержании целостности многоклеточного организма (Бернет, 1964).

Рассматриваются отличия от существующих представлений о роли брачного подбора (Потапов и др., 2000; Мошкин и др. ) и роли генов ГКГ в реализации механизма брачных предпочтений (Марков). Предлагаются варианты экспериментальной проверки модели.

Литература:

К. Лоренц. Оборотная сторона зеркала. (пер. с нем.). М.: Республика, 1998.  
М.Бернет. Целостность организма и иммунитет М. Наука. 1964.

М.А. Потапов, В.И. Евсиков. Генетико-физиологические взаимоотношения мать-плод и их влияние на адаптивные признаки потомков: Взгляд с третьей стороны. в сб.: Современные концепции эволюционной генетики ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, 2000

М.П. Мошкин, Л.А. Герлинская, Р. Нагатоми. Запах, который не лжет. Наука из первых рук. 2005 №2.

А. В. Марков, А. М. Куликов. Гипотеза иммунологического тестирования партнеров. Известия РАН. Серия биологическая. 2006. №№ 1-2.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ПОТЕНЦИЙ ГЕНОМА ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ  
КЛЕТОК

*Серов О.Л.*

## ИССЛЕДОВАНИЕ ЕСТЕСТВЕННОЙ МУТАБИЛЬНОСТИ МУТАНТОВ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ PISUM SATIVUM L.

К.К.Сидорова

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск.*

В опытах использовали морфологические мутанты гороха М9-М10 поколений, индуцированные из сорта Торсдаг. Мутанты К2 – рано зацветающий, К3 – компактный стебель, К10 – ветвящийся карлик, К169 с фасцированным стеблем. Проведен генетический анализ мутантов. Все мутанты имеют природу моногенных мутаций с плейотропным эффектом. Каждый мутант и линию, созданную методом отбора нескольких типичных растений из сорта Торсдаг, предварительно изучали на константность до М9-М10 поколений и считали их гомозиготными линиями. Установлено, что у большинства мутантных линий повышен темп естественного формообразовательного процесса. Это проявляется как на уровне перестроек хромосом (табл.1), так и на уровне видимых мутаций (табл.2).

Таблица 1. Частота клеток с перестройками хромосом в первых митозах меристематических клеток корешков проростков.

| Сорт, мутант | Анализовали    |              | Клетки с нарушениями, % |                       |
|--------------|----------------|--------------|-------------------------|-----------------------|
|              | число корешков | число клеток | Среднее по циклу        | Максимальное по циклу |
| Торсдаг      | 81             | 6343         | 0,36                    | 0,73                  |
| Мутанты: К2  | 60             | 3886         | 0,28                    | 0,60                  |
| К3           | 91             | 5831         | 0,94***                 | 2,35**                |
| К10          | 77             | 2381         | 1,90***                 | 3,10**                |

Таблица 2. Частота видимых мутаций.

| Показатель                                             | Сорт Торсдаг | Мутанты |         |        |         |
|--------------------------------------------------------|--------------|---------|---------|--------|---------|
|                                                        |              | К2      | К3      | К10    | К169    |
| Число изученных растений                               | 5223         | 6210    | 7548    | 4500   | 2593    |
| Мутантные растения (хлорофильные), %                   | 0            | 0,06*   | 0,18**  | 0,04   | 0,27**  |
| Мутантные растения (хлорофильные + морфологические), % | 0,02         | 0,23*** | 0,34*** | 0,24** | 0,42*** |
| Число типов мутантов                                   | 1            | 5       | 6       | 7      | 4       |

Частота возникновения естественных мутаций у мутантных линий оказалась на порядок выше чем у исходной формы. Мы связываем это с тем, что у мутантов изменены очень важные регуляторные системы, функционирующие на разных уровнях:

- а) на уровне клетки (ядра и цитоплазмы), что обусловлено изменением у мутантов генетической программы;
- б) на клеточном и тканевом уровнях, куда относятся гормональные регуляции;
- в) на уровне организм-среда, координирующие процессы внутри организма, с изменяющимися условиями внешней среды.



Эти выводы основаны на результатах специально проведенных физиологических исследований по содержанию фитогормонов у разных типов мутантов, а также по результатам обширных экологических испытаний мутантов, которые свидетельствуют об изменении нормы реакции на меняющиеся условия внешней среды у мутантов по сравнению с исходным сортом.

Результаты проведенных исследований подтверждают одно из положений эволюционной теории, сформулированное И.И.Шмальгаузенom: «Накопление мутаций, разрушающих регуляторный аппарат организма, само способствует дальнейшему возникновению мутаций. Мутирование неограниченное отбором, ведет к повышению самой мутабельности.».

Таким образом, отбор мутантных форм, автоматически ведет к усилению формообразовательного процесса. Подобная форма отбора, приводящая к значительному нарушению процессов онтогенеза, стабилизированных в течение предшествующей эволюции, и к резкому повышению изменчивости и формообразования, была названа Д.К.Беляевым (1972, 1979) дестабилизирующей. Им было высказано также предположение, что дестабилизирующий отбор, играет, вероятно, большую роль не только в доместикации животных и растений, но и вообще в процессе эволюции. Результаты исследований, проведенных на мутантах гороха, – одно из подтверждений этого предположения.

КОМПОНЕНТЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ГРУЗА В ПОПУЛЯЦИЯХ *Drosophila melanogaster* СЕВЕРНОЙ ЕВРАЗИИ

Синянский Я.Я., Иванников А.В., Захаров И.К.

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, г. Новосибирск,  
630090, Россия

В течение двух последних десятилетий нами изучались концентрации летальных мутаций и MR-активность (**M**ale **R**ecombination) хромосом в природных популяциях *Drosophila melanogaster* на территории бывшего СССР. 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 городе Сочи в 2004 г.

Установлено, что концентрации 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  $\geq 1$  %) MR-хромосом.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 05-04-48838.

САЛЬТАЦИОНИЗМ И СИСТЕМНЫЕ МУТАЦИИ. ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ

Стегний В.Н,  
*Томский государственный университет, Томск, Россия*

## ОСОБЕННОСТИ МИКРОЭВОЛЮЦИИ ПРИ СОЗДАНИИ ПОРОД ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

Тихонов В.Н.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090*

Микроэволюция является основой породообразовательного процесса у всех видов сельскохозяйственных животных, которому всегда предшествует очень важный по последствиям процесс domestikации. При этом формируются domestikцированные популяции, гибридизация которых в условиях значительного дополнения естественным отбором искусственного многократно интенсифицирует микроэволюцию. Указанные факторы инициируют широкий генетический полиморфизм и дивергенцию аборигенных популяций, обуславливают быстрый рост адаптивности и плодовитости, преобразование морфо-физиологических свойств, связанных с повышением продуктивности. Значительно форсируются перестройки генома в результате физиологического стресса и изоляции ограниченных по численности популяций, а также благодаря значительному качественному улучшению условий кормления и содержания.

На породообразовательном этапе микроэволюции, большое значение приобретает дополнение примитивных форм искусственного отбора более эффективными приемами зоотехнического подбора, селекции и биотехнологическими методами. При этом особое значение приобретает геномный мониторинг по кровогрупповым и другим генетическим маркерам. Таким образом, мутации, domestikация и гибридизация создают первичную основу породообразования путем формирования аборигенных популяций. Эти генофонды и их внутривидовая гибридизация, формируют условия микроэволюции, которая ведет к созданию высокопродуктивных породных популяций с обогащенной наследственностью и устойчивой и адаптивностью.

В геноме *Sus scrofa domestica* нам удалось идентифицировать молекулярные субхромосомные структуры, кодирующие мультигенные семейства, которые образовались в процессе микроэволюции на основе геномных мутаций и внутривидовой гибридизации. При генезисе домашних свиней участвовали до 10 европейских и азиатских диких подвидов *S.s.scrofa*, и гибридизационный процесс особенно усилился в постдомestikационный период.

Многолетние сравнительные молекулярно-иммуногенетические исследования более 60 пород и изучение модельных процессов по выведению ландрас-кабаньих гибридов и миниатюрных свиней показали, что при выведении всех современных высокопродуктивных пород свиней, имеющих глобальное распространение, отмечается каскадное многократное повторение и перманентное использование европейских и азиатских предковых форм. Это подтверждается историко-зоотехническими данными и молекулярно-иммуногенетическим анализом локусных и сублокусных элементов 9, 12, 15 и 17-ой хромосом.

Процесс выведения всех известных пород мы считаем возможным рассматривать в селекционно-генетических популяционных понятиях и терминах микроэволюции как равнозначный эквивалент внутривидового межпородного скрещивания. При этом важно, что и внутривидовая гибридизация современных далеких потомков подвидов диких кабанов Евразии, и селекция всех аборигенных domestikцированных популяций происходят при активном использовании искусственного отбора, проводимого человеком. Об этом свидетельствуют данные молекулярно-иммуногенетического анализа частот аллелей диаллельных локусов **D**, **F** и **G** хромосом 12, 17 и 15, что подтвердилось

изучением полиаллельных локусов **E** и **L** с мультигенными семействами гаплотипов независимых сублокусных элементов хромосом 9 и 4.

Основным событием в микроэволюционном процессе породообразования всех изученных популяций домашних свиней *Sus scrofa domestica* оказалось включение в компаундные новые породные геномы наиболее адаптивных и функционально продуктивных структурных элементов локусов родительских форм европейского и азиатского происхождения. Кроме принципиально важного расширения гибридного обогащения генетической основы структуры аддитивной наследственности, это обеспечило перманентное поддержание оптимально высокой гетерозиготности не только по локусным, но и по сублокусным внутривхромосомным элементам в геномах популяций всех изученных пород.

Общие закономерности микроэволюции позволяют предположить возможность возникновения особенностей, аналогичных установленным при изучении генезиса пород свиней, также при породообразовательном процессе и практически всех других видов домашних животных.

## ФОРМИРОВАНИЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ ГЕТЕРОГЕННЫХ ГЕНОМОВ ЕВРО-АЗИАТСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПРИ МИКРОЭВОЛЮЦИИ *Sus scrofa scrofa*

В.Н.Тихонов, В.Е.Бобович

*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, 630090*

Современные биотехнологии животноводства требуют применения новых эколого-хозяйственных условий для оптимальной реализации селекционно-генетического потенциала при разведении чистопородных животных и при их промышленном скрещивании. При формировании физиологических и адаптивных качеств, а также резистентности к патологиям, приносящим возрастающие потери в животноводстве, большую роль может играть использование гетерогенности генома, заложенной гибридизацией родительских форм и всем предшествующим генезисом предковых форм, включая европейские и азиатские дикие подвиды. Молекулярно-иммуногенетический мониторинг генезиса лучших пород свиней, имеющих глобальное распространение (крупной белой, ландрасской, дюрокской и гемпширской), а также новой скороспелой мясной породы свиней Новосибирской селекции (СМ-1), убедительно показывает значение гетерогенности всех даже очень далеких евро-азиатских предковых геномов и их сочетаемости при выведении новых пород. В равной степени этот относится и к созданию внутривидовых популяций, наиболее эффективных при внутривидовой гибридизации при скрещивании для пользовательных целей промышленного животноводства.

Судя по результатам естественного и искусственного отбора, гибридизация подвидов диких форм *Sus scrofa scrofa* в природных условиях и доместифицированных форм в условиях селекции человеком (при выведении аборигенных и современных культурных пород свиней), происходит очень сходными микроэволюционными путями. Проведенные популяционные и гибридологические исследования популяций свиней на разных уровнях их разведения, убедительно показывают весьма близкое закономерное повышение частоты гетерозиготных евроазиатских геномных структур, включающих наиболее изученные информативные локусы **EAE**, **EAL** и **EAG** хромосом №№ 9, 4 и 15. В процессе микроэволюции от диких к домашним аборигенным формам и, далее, к культурным породным популяциям частота компаундных элементов закономерно увеличивается. Закономерное повышение частоты гетерозиготности евро-азиатских геномных структур, включающих азиатские и европейские аллели и субаллели кровогрупповых иммуногенетических систем наблюдается и при рассмотрении аборигенных породных популяций и в пределах культурных пород, включая новые сибирские породы.

При формировании аборигенных домашних свиней на основе гибридизации альтернативных мономорфных азиатских и европейских популяций с гомозиготными генотипами, гетерозиготность поднимается до 10-20 %. При создании культурных заводских пород она достигает максимального уровня и составляет 40-50%. При этом значительную часть остального генома занимают структуры азиатского происхождения. Особенности увеличения гетерозиготности по разным участкам генома в диких, аборигенных и доместифицированных, а также в экспериментальных гибридных популяциях свиней подтверждают, что важным условием возникновения и поддержания евро-азиатской гетерозиготности является повышенные плодовитость, жизнеспособность и адаптивность гибридов.

Гетерозиготность геномов по локусам **G**, **L** и **E** оказалась адекватной функциональной адаптивности организмов отдельных животных и средней частоте гетерозиготности изученных популяций. Самый высокий уровень гетерозиготности свойственен наиболее распространенным в мире выдающимся по продуктивности породам крупной белой, беркширской, ландрасской и дюрокской, созданным на основе компаундных евро-азиатских геномов. Частота гетерозиготного генотипа **Ga/b** евроазиатского генома локуса **G** превышает в несколько раз частоту гомозиготного генотипа **Ga/a** у крупной белой породы, беркширской и ландрасской пород.

Установлено высокое (превышающее теоретически ожидаемое) участие азиатских аллельных и субаллельных структурных элементов, что связано с повышением евро-азиатской гетерозиготности в геноме изученных высокопродуктивных пород. Это относится и к европейским, и к американским и наиболее продуктивным породам России.

У кабанов центральных регионов Евразии частота евразийской гетерозиготности хромосомы № 4 по локусу **EAL** в отличие от локуса **EAG** хромосомы № 15 оказалась весьма высокой с колебанием **La/b** от 44.2 до 49.4%. У большинства заводских пород гетерозиготность **La/b** как и **Ga/b** очень большая и, как правило, превышает 40%. Следует особо отметить, что такую же высокую долю гетерозиготных животных по **EAL**-локусу наблюдали при разведении миниатюрных сибирских свиней минисибс «в себе»: у 558 особей **F**<sub>3.5</sub> она составляла 46.9%, а у 889 особей **F**<sub>6.9</sub> повысилась даже до 50%.

Установлена повышенная адаптивность и приоритетное превосходство по репродуктивным качествам у животных с компаундным евро-азиатским геномом (т.е. которые имеют гетерозиготный генотип по отдельным элементам разных локусов). У европейских диких предковых форм домашних свиней найдена только одна внутривидовая форма гетерозиготности по субаллельным структурам локуса **EAL** (**bcbi/bdfi**), в хромосоме № 4, тогда как у наиболее адаптивных и продуктивных домашних свиней обнаружена еще одна целая группа внутривидовых форм гетерозиготности, включающих 6 **La**-позитивных гаплотипных элементов генома азиатского происхождения. Подобная многоуровневая гетерозиготность из большого числа внутривидовых азиатских и европейских элементов генома обнаружена также по субаллельным структурам локуса кровогрупповой системы **EAE** (одноименный локус хромосомы № 9).

Таким образом, популяционные данные однозначно подтверждают во-первых, несомненное участие молекулярной структуры антигенов, которые контролируются мультигенным семейством аллелей, генетически сцепленных с аллелями, несомненно имеющими азиатское происхождение, в формировании фактически всех изученных современных пород. В числе их можно видеть породы, начиная от локальных древних европейских (таких как мангалицкая и кахетинская) до классических современных, получивших в настоящее время глобальное распространение на всех континентах, как крупная белая, беркширская, гемпширская, дюрокская, ландрасская и другие.

Сопоставление экспериментальных данных впервые однозначно показывает путь возникновения в процессе микроэволюции полиморфизма молекулярной субаллельной структуры локуса **EAL** у большинства изученных пород. У диких прародительских форм и предковых локальных пород гетерозиготность значительно меньше, чем в пределах популяций современных культурных пород. Это определилось историко-зоотехнологическими условиями выведения последних, повышенной адаптивной и селективной ценностью гетерозиготных генотипов, формирующихся при создании и скрещивании наиболее продуктивных геномов европейского и азиатского происхождения.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ СЕЛЕКЦИИ НА КАТАЛЕПСИЮ И ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К АНТИДЕПРЕССАНТАМ У МЫШЕЙ И КРЫС

<sup>1</sup>Тихонова М.А., <sup>1</sup>Куликов А.В., <sup>2</sup>Колпаков В.Г.

<sup>1</sup>Лаборатория нейрогеномики поведения и <sup>2</sup>лаборатория эволюционной генетики  
Института цитологии и генетики СО РАН

Ранее было показано, что селекция на определенный тип поведения у разных видов животных сопровождается появлением сходных морфологических и поведенческих изменений. Линия крыс ГК была получена в ходе многолетней селекции из крыс аутбредной популяции Вистар. Примерно у 50% животных этой линии развивается реакция замирания (катаlepsия), длящаяся от 10 с до нескольких минут, при приподнимании крысы за передние лапки в вертикальное положение. Мыши линии ASC были селекционированы из популяции беккроссов между катаlepsической линией мышей СВА и некатаlepsической AKR, они характеризуются чрезвычайно высокой предрасположенностью (85%) к катаlepsии, вызываемой последовательным нанесением щипков на кожу загривка (pinch-induced, «щипковая катаlepsия»). Примечательно, что обе линии животных-катаlepsиков обладают рядом черт поведения и физиологических признаков, сходных с наблюдаемыми при депрессивных расстройствах. Целью настоящей работы являлось изучение взаимосвязи селекции на катаlepsию у двух видов лабораторных грызунов и чувствительности их поведения к антидепрессивным агентам.

У обеих изученных линий было выявлено сходное влияние антидепрессантов на проявление катаlepsии. Более того, реакция животных имитировала динамику клинического эффекта антидепрессантов. Хроническое (7,5 и 15 мг/кг, 28 дней), но не острое (7,5 и 15 мг/кг) введение имипрамина снижало время замирания у крыс ГК. Аналогичная картина наблюдалась у мышей линии ASC: хроническое (25 мг/кг, 10 дней), но не острое (25 мг/кг) введение имипрамина или флуоксетина уменьшало катаlepsию. Следует отметить, что описанная реакция являлась специфичной, мы не обнаружили достоверного воздействия антидепрессантов на двигательную активность животных в тесте открытого поля, на поведение животных в тесте свет/темнота или на амплитуду акустического рефлекса вздрагивания и престаимульное ингибирование.

Сходство многих характеристик и параллельные изменения под действием антидепрессантов дают основание предполагать общие нейробиологические механизмы, обуславливающие их, у разных видов. Ряд данных указывает на вовлечение 5-HT<sub>2A</sub> серотониновых рецепторов коры мозга в механизмы развития депрессии и действия антидепрессантов. Мы исследовали эффект хронического введения антидепрессантов на уровень экспрессии гена 5-HT<sub>2A</sub> рецепторов в коре мозга. У крыс ГК хроническое введение имипрамина повышало вдвое уровень мРНК 5-HT<sub>2A</sub> рецепторов, однако, у мышей ASC ни имипрамин, ни флуоксетин не изменяли этот параметр. Полученные результаты не подтверждают ключевой роли экспрессии гена 5-HT<sub>2A</sub> рецепторов коры мозга в механизмах антикатаlepsического эффекта антидепрессантов. Таким образом, крысы ГК и мыши ASC могут быть предложены как адекватные взаимодополняющие генетические модели для изучения механизмов терапевтического эффекта антидепрессантов и развития депрессивных психозов.

*Работа поддержана грантом Президента РФ для молодых ученых № МК-1359.2007.4 и междисциплинарным интеграционным проектом СО РАН №5.*



## ГОМОЛОГИЧЕСКИЕ РЯДЫ В НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ОКРАСКИ МЕХА В ХОДЕ ДОМЕСТИКАЦИИ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (*Mustela vison* Schreber, 1777)

Трапезов О.В.

*Институт цитологии и генетики СО РАН*

В условиях экспериментального воспроизведения исторического процесса domestikации на модельном объекте – американской норке, была зарегистрирована высокая частота ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) возникновения *de novo* окрасочных новшеств – обширной белой пятнистости (пегостей). При этом наблюдается удивительный параллелизм или гомологичность с другими исторически ранее одомашненными видами – кроликами, сиамскими кошками и морскими свинками и в такой особенности окраски, как проявление частичного альбинизма или окраски гималайского типа (рис. 1).



Рис. 1. В ходе domestikации норок у них появляется гомологичные) рисунки раскраски мехового покрова, как и у видов, одомашненных исторически в более ранние сроки.

Возможно ли, истолковывать феномен гомологических рядов без анализа их адаптивной ценности? Вряд ли, – ведь любое проявление гомологичной изменчивости (кстати, как и любой другой изменчивости), проходит оценку на адаптивность естественным отбором.

Можно ли считать такой признак как, проявление белой пятнистости (пегостей) или той же сямской раскраски мехового покрова в ходе domestikации самых разных таксономических групп животных, в том числе и пушных зверей, нейтральным, не адаптивным? Вряд ли, – ведь он вполне может быть сцеплен в наследовании с признаком адаптивным – устойчивостью к психоэмоциональному стрессу, к проживанию в условиях неволи, к антропогенной среде, к успешному размножению изначально диких животных (внезапно оказавшихся по эволюционным меркам) в ограниченном и тесном жизненном пространстве клеточного содержания.

Конечно, внешнее сходство в раскраске волосяного покрова у совершенно отдаленных в таксономическом отношении видов, вовлеченных в процесс domestikации, не дает нам оснований судить о сходстве генотипического порядка. Но, исходя из поразительного сходства в фенотипической изменчивости, обусловленной единством процесса domestikации у видов достаточно далеких по происхождению, можно подразумевать наличие специфической генной компоненты, подпадающей под давление одного и того же вектора отбора. Мы можем говорить, наряду со спецификой видов и родов, о наличии у них общей генной компоненты – *генов domestikации*, а точнее *генов стрессоустойчивости*, обеспечивающих в условиях domestikации толерантность к психоэмоциональному стрессу, терпимости к пребыванию в условиях антропогенной среды промышленных звероферм.

## ЭФФЕКТЫ ДЕСТАБИЛИЗИРУЮЩЕГО ОТБОРА И НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ В СЕЛЕКЦИИ НА ПРИМЕРЕ АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (*Mustela vison* Schreber, 1777)

Трапезов О.В.

*Институт цитологии и генетики СО РАН*

В условиях экспериментального воспроизведения исторического процесса domestikации был заложен эксперимент по длительному отбору американских норок клеточного разведения по оборонительной реакции на человека: 1) на усиление способности к domestikации и 2) в противоположном направлении – на крайнее проявление агрессивности. В эксперимент были вовлечены тысячи животных. За 15 поколений селекции были созданы две экспериментальные популяции норок, резко отличающиеся по поведению, как от контрольной промышленной популяции – не затронутой специальным отбором по поведению, так и друг от друга: с генетически детерминированным domestikационным (ручным) и агрессивным по отношению к человеку поведением.

В ходе селекции были выявлены взаимоотношения между направлением отбора по поведению и изменчивостью в окраске мехового покрова животных. В контрольной популяции общая окраска меха норок сохранялась стандартной. Такие животные характеризуются темно-коричневой окраской волосяного покрова с наличием у 90% животных депигментированных участков (белой пятнистости или пегостей) площадью 1-2 см<sup>2</sup>, локализованных на подбородке и в паху. Некоторые авторы даже предлагают считать (Терновский, 1958), что пегости в этих участках тела являются видовым признаком американской норки. Селекционное преобразование поведения американских норок в domestikационном и агрессивном направлениях вызвало прямо противоположные коррелированные ответы.

Так, среди особей с агрессивной реакцией на человека 27% животных вообще не имели белой пятнистости. Звери из агрессивной группы обладают также более темной окраской меха. Кроме того, 17% селекционируемых на агрессивность норок имели пигментированное нёбо (в контроле – только 3,4%).

Первым ответом отбора американской норки на domestikационное поведение было изменение однородности исходной стандартной окраски мехового покрова в виде появления *de novo* с частотой 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-4</sup> окрасочных новшеств – обширной белой пятнистости на различных участках туловища животных: спине, боках, лапах, хвосте.

Кроме появления неспецифических обширных пегостей в группе норок, селекционируемых на domestikационное поведение с частотой 10<sup>-4</sup> зарегистрировано возникновение *de novo* еще одного окрасочного новшества – обильной седины направляющего и остевого волоса у гетерозиготных форм (C<sub>R</sub>/+). Генетический анализ выявил полудоминантную природу этого окрасочного новшества. Гомозиготные формы (C<sub>R</sub>/C<sub>R</sub>) характеризуются проявлением частичного альбинизма или окраски гималайского типа, свойственного гималайским кроликам, сиамским кошкам и также морским свинкам.

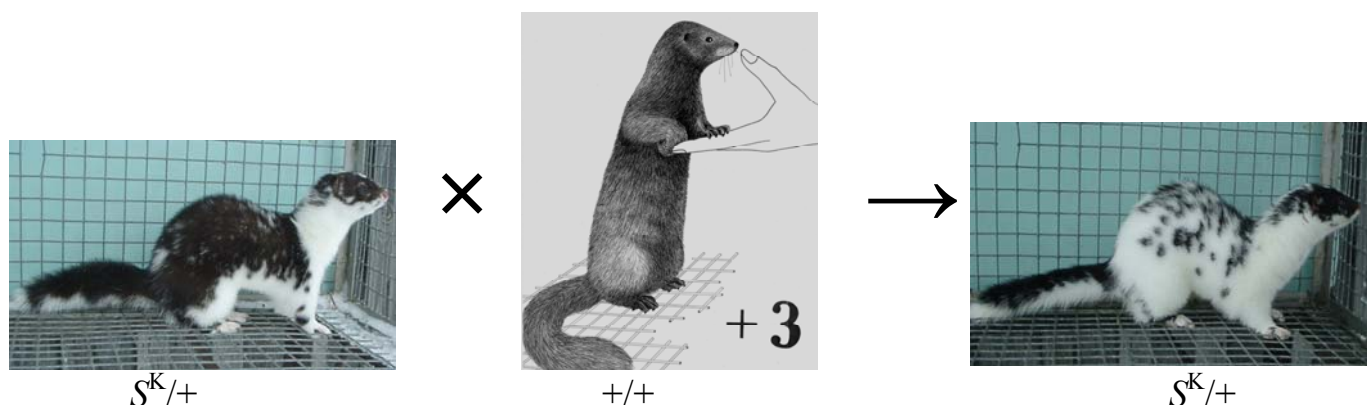
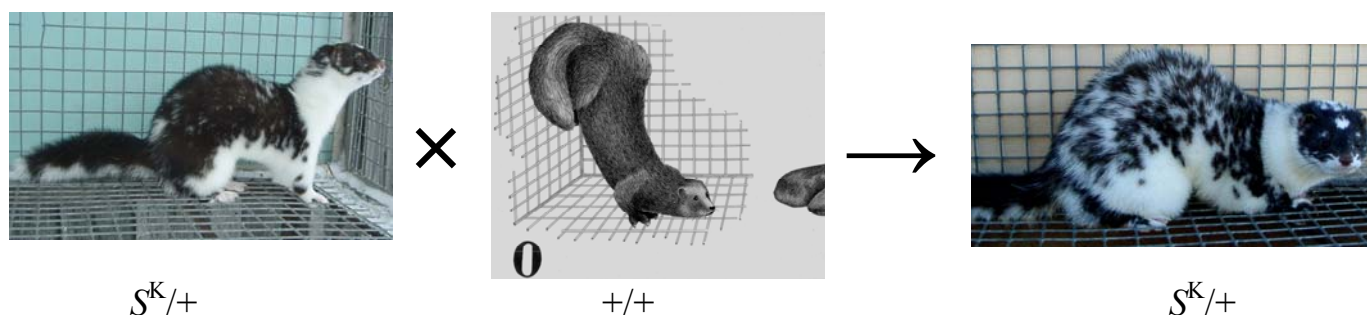
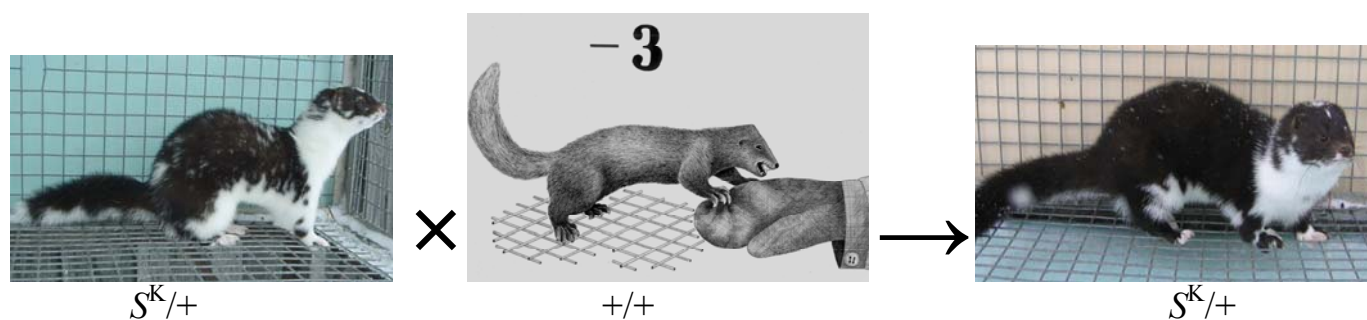
Итак, отбор на domestikационное поведение выявил скрытую генетическую изменчивость окраски меха у американских норок, что в свою очередь, подсказывает пути поиска и отбора новых вариантов раскраски меха у этих животных.

Например, был разработан метод влияния степени domestikационного поведения на рисунок окраски меха у норок мутантной окраски *Карельская темно-коричневая* (см. рис. 1). По классическому описанию, *Карельская темно-коричневая норка* (S<sup>K</sup>/+) имеет белое брюшко, сплошь пигментированную спину, лоб пигментирован, но с белыми

пятнами. На боках темно-коричневая окраска переходит в белую, как правило, постепенно. У многих зверей на пигментированных участках имеются седые волосы (Ильина, Кузнецов, 1983). При скрещивании самок различного поведения с самцами классической раскраски в потомстве получают звери, как самцы, так и самки, абсолютно различных типов окраски меха.

На ниже приведенном рисунке представлена схема скрещивания и внешний вид потомства от самцов норок *Карельская темно-коричневая* ( $S^K/+$ ) со стандартными самками ( $+/+$ ) из линий с различным типом поведения.

1. Если для самцов норок *Карельская темно-коричневая* ( $S^K/+$ ) при скрещивании использовать агрессивных самок норок ( $-3$  балла), то пигментация меха у всех потомков мутации *Карельская темно-коричневая* будет обширной, она будет распространяться сплошь по всей дорзальной поверхности туловища.



2. Но вот, для скрещивания самцов норок *Карельская темно-коричневая* ( $S^K/+$ ) используем стандартных темно-коричневых ( $+/+$ ) самок норок с трусливо-оборонительным поведением («0» баллов). Модальный класс потомков мутации *Карельская темно-коричневая* ( $S^K/+$ ) будет иметь пятнистую окраску.

3. Для самцов норок *Карельская темно-коричневая* ( $S^K/+$ ) в качестве половых партнеров используем *стандартных темно-коричневых* ( $+/+$ ) самок из линии с доместикационным поведением (+3 балла). Модальный класс потомков мутации *Карельская темно-коричневая* ( $S^K/+$ ) характеризуется легким изящным рисунком пятнистости.

Таким образом, используя генотипическую среду *стандартных темно-коричневых* ( $+/+$ ) матерей из различных поведенческих линий, можно регулировать экспрессивность проявления рисунка пятнистости в потомстве американских норок мутации –  $S^K/+$ .

ФЕНОГЕНЕТИКА ОКРАСКИ МЕХА МУТАЦИЙ КОМБИНАТИВНЫХ ФОРМ  
У АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (*Mustela vison*)

О.В. Трапезов, Л.А. Прасолова  
Институт цитологии и генетики СО РАН  
630090, пр. Лаверентьева, 10, г. Новосибирск

Пигментация волосяного покрова складывается из длинной и сложной цепи процессов, каждый из которых находится под генетическим контролем. Мутации могут модифицировать любой из этих процессов и повлиять на окраску волос, которая, в конечном счете, зависит от типа и количества продуцируемого меланина, формы и распределения по слоям волоса пигментных гранул. Целью исследования являлось изучение морфологии пигментации волос у мутантных норок, полученных в Экспериментальном хозяйстве Института цитологии и генетики на основе комбинаций гена окраски мойл (m) с неаллельными генами сапфировой (a/a p/p), серебристо-голубой (p/p) и алеутской (a/a) окрасок.

Норка окраски мойлсапфир или фиолет (m/m a/a p/p) трирецессивная комбинация генов мойл в гомозиготном состоянии (m/m) и генов сапфировой окраски (a/a p/p), которая сама по себе является комбинацией алеутской (a/a) и серебристо-голубой мутаций (p/p). У норки фиолет глаза розовые, волосяной покров бледно-голубой. Вершины остевых волос белые, без пигмента. В корковом слое пигментные гранулы удлинённые, расположены вдоль волоса по одиночке или небольшими группами не по всей толще, а только во внутренней части этого слоя, прилегающего к сердцевине, которая пигментирована достаточно плотно и равномерно.

Норка окраски мойлсеребристая, называемая также шалфейная, сэйдж (m/m p/p), дирецессивная, образована взаимодействием генов мойл (m/m) и серебристо-голубой (p/p) в гомозиготном состоянии. Окраска волосяного покрова норки шалфейная «кофе с молоком» или бежевая, глаза - розовые. Морфологическая картина пигментации волос сходна с мутацией фиолет по форме и расположению пигментных гранул в корковом и сердцевинном слоях по отсутствию пигмента в вершинах волос. Но количество пигмента в волосах значительно больше, чем у норки окраски фиолет, а длина беспигментных вершин меньше.

У норки комбинативной формы (m/+ a/a) ген мойл в гетерозиготном состоянии (m/+) и алеутской (a/a) – в гомозиготном. Окраска меха аспидно-серая с серо-голубым пухом идентична алеутской. Морфологическая картина пигментации волос также похожа на алеутскую: очень плотное заполнение пигментными гранулами коркового и сердцевинного слоев. Таким образом, для каждой из описанных мутаций, в генотип которых входит ген мойл (m), свойственен свой характерный тип пигментации волос на уровне морфологии. Включение в генотипы мутаций сапфир, серебристо-голубая гена мойл в гомозиготном состоянии оказывает, в основном, влияние на количество меланина в волосе, тогда как ген мойл в гетерозиготном состоянии в генотипе алеутской мутации морфологически не проявляется.

Работа выполнена при поддержке программы Президиума РАН «Динамика генофондов» N 11.3.2.



## АМПЛИФИКАЦИЯ ГЕНОВ В В-ХРОМОСОМАХ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В.А. Трифонов<sup>1,2</sup>, Д.В. Юдкин<sup>1</sup>, Д.М. Ларкин<sup>3</sup>, Н.В. Воробьева<sup>1</sup>, Н.В.Рубцова<sup>1</sup>, П. О'Брайэн<sup>2</sup>, Ф. Янг<sup>4</sup>, М. Фергюсон-Смит<sup>2</sup>, А.С. Графодатский<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск*

<sup>2</sup>*Центр сравнительной геномики, Кембриджский университет, Великобритания*

<sup>3</sup>*Университет Иллинойса, США*

<sup>4</sup>*Сэнгер Институт, Кембридж, Великобритания.*

В- или добавочные хромосомы остаются загадкой для современных цитогенетиков. Эти элементы присутствуют в кариотипах многих видов из разных таксонов эукариот и их функция в геноме также как и их молекулярный состав остаются в большинстве случаев неисследованными. После обнаружения консервативных копий гена C-KIT на добавочных хромосомах лисиц и енотовидных собак (Graphodatsky et al., 2006) встал вопрос о присутствии других генов в В-хромосомах этих и других видов. Мы разработали подход, основанный на отборе кДНК последовательностей, специфичных для добавочных хромосом, который заключается в гибридизации тотальной библиотеки последовательностей кДНК с библиотекой сортированных В-хромосом и отборе гибридов. В результате были получены кДНК библиотеки В-хромосом лисицы, косули, мазама и копытного лемминга. Анализ библиотек показал наличие в В-хромосомах этих видов копий различных аутосомных генов, в некоторых случаях была обнаружена амплификация генов домашнего хозяйства.

В случае сибирской косули (*Capreolus pygargus*,  $2n=70+8B$ ) В-хромосомы содержат амплифицированный район размером около 500 тпн, гомологичный участку хромосомы 3 коровы и содержащий такие важные гены как TNNI3K и LRR44. В случае серой мазама (*Mazama gouazoubira*,  $2n=70+3B$ ) в состав добавочных хромосом входят гены из трех разных аутосомных участков.

Таким образом, у исследованных видов, феномен наличия В-хромосом связан с амплификацией генов и их поддержания в автономной группе сцепления. Первоначальное накопление добавочных хромосом в популяции могло происходить при наличии благоприятного эффекта этих элементов либо в результате мейотического драйва.

Хотя вопрос об экспрессии В-хромосомых копий генов остается открытым, показанный нами феномен амплификации разнородных генов свидетельствует о новой форме эволюции кариотипа и согласуется с фактом наличия в отсеквенированных геномах неожиданно большой вариации числа копий протяженных последовательностей и сегментных дупликаций.

ЭВОЛЮЦИОННЫЕ ИДЕИ Д.К. БЕЛЯЕВА КАК КОНЦЕПТУАЛЬНЫЙ МОСТ  
МЕЖДУ БИОЛОГИЕЙ, МЕДИЦИНОЙ И СОЦИОЛОГИЕЙ.

Л.Н.Трут



## ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭВОЛЮЦИИ МОЛЕКУЛЯРНО - ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ УПРАВЛЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА.

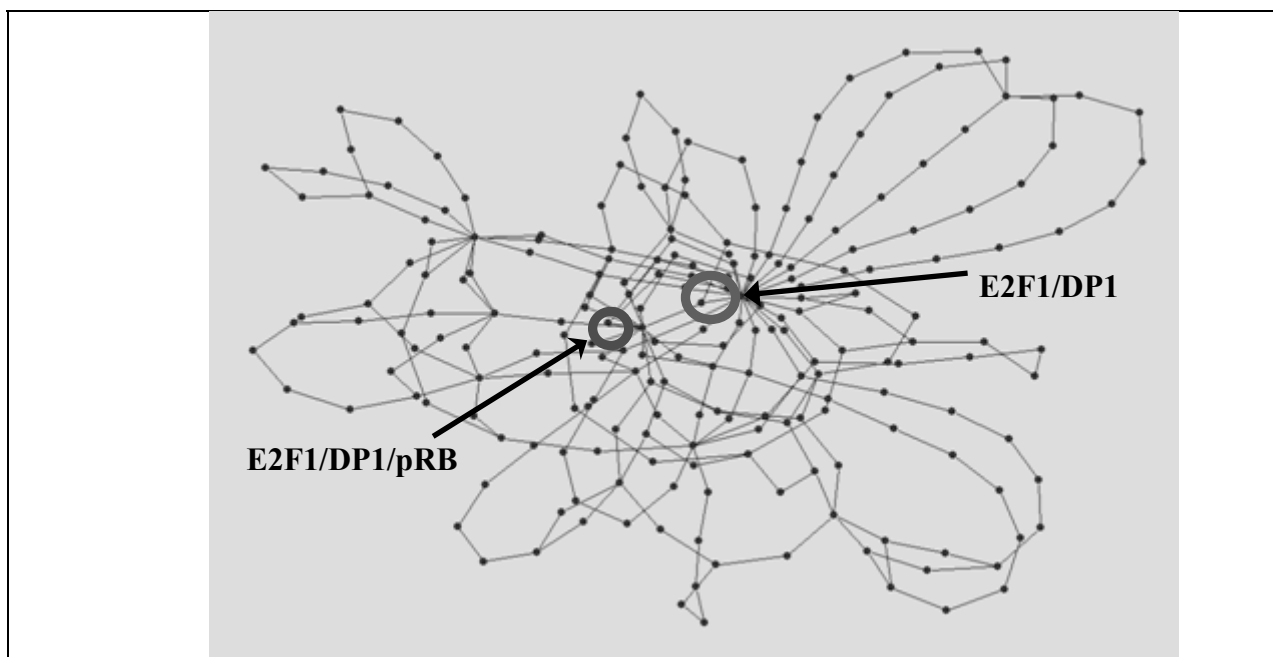
Турнаев И.И.\*, Гунбин К.В., Омелянчук Л.В. и Лихошвай В.А.

\*- автор ответственный за корреспонденцию: turn@bionet.nsc.ru

Проведен сравнительный филогенетический анализ белков, участвующих в основных процессах клеточного деления у трех таксономических групп организмов: Eubacteria, Archaea и Eukaryota. Исследовались следующие процессы клеточного цикла: временной контроль процессов клеточного цикла (циклины), репликация ДНК, синтез белков (транскрипция, трансляция), сегрегация хромосом, цитокинез. В результате анализа выявлены подсистемы генной сети клеточного цикла с различной степенью эволюционного консерватизма: 1) консервативные процессы общие у про- и эукариот (базальная транскрипция, цитокинез), 2) неконсервативные процессы которые могут быть утрачены или приобретены в ходе эволюции про- и эукариот (механизмы точек контроля (checkpoints)) и 3) процессы, эволюционное изменение которых не является радикальным (репликация и репарация ДНК). Ключевыми факторами эволюционно-консервативных процессов являются белки РНК-полимеразного комплекса (36-48% сходства), тубулины эукариот и белки Fts кластера прокариот (44-54%). Значительно меньшей степенью эволюционного консерватизма характеризуются белки сверочных точек (нет сходства аминокислотных последовательностей и/или наблюдается до 30% сходства отдельных протеин-киназ). Промежуточная степень эволюционной консервативности характерна для белков репликации ДНК (~30% сходства, в тоже время сходство между  $\delta$ -субъединицами ДНК-полимераз *Schizosaccharomyces pombe* и *Streptococcus agalactiae* составляет 71%).

На основе данных структурного сходства белков отражающих их функциональное сродство [Robert *et.al.*, 2006], нами выдвинута гипотеза о существовании единого молекулярно-генетического механизма клеточного цикла, не зависящего от системы точек контроля, которая вероятно появилась в ходе эволюции позже, возможно с появлением эукариот. Например, в генной сети клеточного цикла млекопитающих имеется регуляторный контур, включающий в себя два гомологичных гена E2F1 и E2F6, и участвующий в контрольной точке перехода из G1 фазы клеточного цикла в S-фазу (Рисунок). Важно, что белки E2F1 и E2F6 в настоящий момент выполняют антагонистические функции. В контексте выдвинутой нами гипотезы такой элемент мог появиться в ходе поздней эволюции эукариот в качестве надстройки над базовой системой регуляции клеточного цикла.

Предыдущие исследования динамики функционирования молекулярно-генетических систем клеточного цикла прокариот и эукариот согласуются с выдвинутой нами гипотезой. Например, известна периодическая динамика базальной транскрипционной активности РНК полимеразы II высших эукариот, контролируемая фактором TFIIID (базальный фактор элонгации транскрипции) [Yonaha *et.al.*, 1995]. Взаимодействие РНК полимеразы с рибонуклеазой [Kim *et.al.*, 2006] и геликазой RapA [Sukhodolets, Jin, 2000] могут участвовать в обеспечении периодической динамики экспрессии генов у прокариот.



**Рисунок.** Иллюстрация роли белков семейства E2F в генной сети «Cell Cycle G0/G1-S» [Ananko *et.al.*, 2005].

В соответствии с рассматриваемой нами гипотезой построена минимальная математическая модель динамики клеточного цикла и проведено ее численное исследование. Исследование показало циклический режим функционирования экспрессии генов и качественно воспроизводит основные параметры бактериального клеточного цикла [Allman *et.al.*, 1991]. Эта модель может быть полезна для понимания динамики функционирования и эволюции клеточного цикла.

Благодарности: №10104-34/П-18/155-270/1105-06-001/28/2006-1 Проект "Эволюция молекулярно-генетических систем: компьютерный анализ и моделирование" Программы Президиума РАН "Происхождение и эволюция биосферы". Авторы благодарят Пономаренко М.П. за плодотворную дискуссию.

#### Список литературы

1. Robert F.D., Mistry J., Schuster-Bockler B., Griffiths-Jones S., Hollich V., Lassmann T., Moxon S., Marshall M., Khanna A., Durbin R., Eddy S.R., Sonnhammer E.L.L., Bateman A. (2006) Pfam: clans, web tools and services. *Nucleic Acids Res.* 34:D247-D251.
2. Yonaha M., Chibazakura T., Kitajima S., Yasukochi Y. (1995). Cell cycle-dependent regulation of RNA polymerase II basal transcription activity. *Nucleic Acids Res.* 23:4050-4054.
3. Kim J., White K.S., Winfree E. (2006) Construction of an in vitro bistable circuit from synthetic transcriptional switches. *Mol Syst Biol.* 2:68. Epub 2006 Dec 12.
4. Sukhodolets M.V., Jin D.J. (2000) Interaction between RNA polymerase and RapA, a bacterial homolog of the SWI/SNF protein family. *J Biol Chem.* 275:22090-22097.
5. Ananko E.A., Podkolodny N.L., Stepanenko I.L., Podkolodnaya O.A., Rasskazov D.A., Miginsky D.S., Likhoshvai V.A., Ratushny A.V., Podkolodnaya N.N., Kolchanov N.A. (2005) GeneNet in 2005. *Nucleic Acids Res.* 33: D425- D427.
6. Allman R, Schjerven T, Boye E. (1991) Cell cycle parameters of Escherichia coli K-12. *J Bacteriol.* 173:7970-7974.

## БИОЛОГИЧЕСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КАК РЕЗУЛЬТАТ ДИНАМИЧЕСКОЙ ДИССИПАЦИИ В ПРОСТРАНСТВЕ ПРИЗНАКОВ: ОТ МОДЕЛЕЙ ДИНАМИКИ ЭКОСИСТЕМ К МОДЕЛЯМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЭВОЛЮЦИИ

Фрисман Е.Я., Тузинкевич А.В., Громова Н.П., Колобов А.Н.  
*Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН,  
Биробиджан, 679016, Россия  
e-mail: frisman@mail.ru*

Одна из центральных проблем эволюционной теории - объяснение механизмов образования дискретных биологических таксонов. Не смотря на то, что основной труд Чарльза Дарвина называется "Происхождение видов", ни этот труд, ни основанная на нем и современной генетике синтетическая теория эволюции так до конца и не дают ответ на вопрос, почему все биологическое разнообразие в конечном счете оказывается дискретным, почему жизнь существует в виде отдельных генетически изолированных видов и почему в большинстве своем между этими видами не осталось переходных форм.

Переформулируем этот вопрос. Допустим чисто гипотетически, что нам удалось описать все признаки, которыми характеризуются некоторые биологические виды, например, принадлежащие к одному роду или семейству (для начала, ограничимся только метрическими признаками). Для каждого из видов можно указать конкретный диапазон изменения значений того или иного признака. Для многих признаков диапазоны изменчивости различных видов будут совершенно различны и во многих случаях они не будут пересекаться. Рассмотрим многомерное пространство всех признаков (т.е. пространство, координатными осями которого являются значения признаков). Ясно, что каждый из видов в этом пространстве будет соответствовать некоторая ограниченная область. Другому виду будет соответствовать другая область пространства, третьему третья и т.д. Однако все виды вместе займут небольшую часть этого пространства, расположившись в нем небольшими отдельными скоплениями. Возникает вопрос: почему и как возникла такая биологическая организация и насколько эта организация устойчива во времени.

Возможность получить ответ на этот вопрос несколько неожиданно появилась при решении совершенно иной задачи из области теоретической экологии, связанной с попытками объяснения неравномерности пространственного распределения растительных сообществ. На идейном уровне эти проблемы – о возникновении дискретных таксонов в пространстве признаков и о «пятнистости» пространственного распределения оказались весьма близкими, однако задача о пространственном распределении растений существенно проще (прозрачнее) как с точки зрения постановки, так и с точки зрения понимания результатов.

Нами предложена математическая модель пространственно-временной динамики сообщества растений, объясняющая возникновение неоднородного (пятнистого) пространственного распределения неустойчивостью характера динамики сообщества, явлениями динамического хаоса и процессами хаотической самоорганизации

При построении данной модели, учитывалось взаимодействие растений, расположенных вблизи друг от друга и оказывающих влияние, как на увеличение биомассы (например, новая поросль), так и на ограничение её роста, вызванное конкуренцией за ресурсы, необходимые для жизнедеятельности (в первую очередь, за свет).

В рамках этой модели показано, что интенсивная пространственная конкуренция за ресурсы (прежде всего за свет) вызывает процессы хаотической самоорганизации и возникновение сложно структурированных неоднородных (пятнистых) пространственных распределений.

Результаты моделирования иллюстрировались анализом структуры ряда растительных сообществ, в частности структуры лесных сообществ на пробных площадях. Интересные результаты получены для шести постоянных пробных площадей, расположенных на территории заповедника «Бастак». Здесь удалось количественно оценить интенсивность ростовых процессов и степень конкурентных взаимоотношения преобладающих древесных пород. Были выделены устойчивые видовые группировки, оценена степень их пространственной неоднородности. Прогноз по модельным сценариям динамики предсказывает устойчивое воспроизводство кедра *Pinus koraiensis* и пихты *Abies nephrolepis* в структуре сообществ северо-западной части ареала и медленное постепенное замещение их другими преимущественно лиственными породами (в частности, дубом и ясенем) в более прогреваемых и более увлажняемых районах.

По аналогии с моделью «экологической» динамики сообществ, нами предложена математическая модель эволюционной динамики биологического сообщества с непрерывным разнообразием наследуемых признаков в пространстве этих признаков. Пространство считается однородным по приспособленности, т.е. предполагается, что в равных условиях все члены сообщества имеют равные приспособленности. В модели учитывается изменчивость, т.е. возможность рождения потомков с различными (в рамках, определяемых генотипами родителей и мутациями) признаками. Показано, что наличие плотнозависимой конкуренции между особями, (меняющейся с ростом различий между признаками конкурентов) при высокой индивидуальной приспособленности приводит к образованию дискретных групп в распределении особей по наследуемым переменным. Предлагаемая модель позволяет описывать как возникновение устойчивого полиморфизма в сообществах, так и происхождение дискретных биологических форм в эволюции, т.е. позволяет описывать процессы видообразования.

Исследование поддержано Дальневосточным отделением РАН, программами президиума РАН «Динамика генофондов и биоразнообразие» (конкурсный проект ДВО РАН 06-I-P11-035), «Происхождение и эволюция биосферы» (конкурсный проект ДВО РАН 06-I-P18-082) и РФФИ (проект 06-04-96025)

## КОМПОНЕНТНЫЙ АНАЛИЗ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЛИСИЦ.

Харламова АВ<sup>1</sup>, Chase K<sup>2</sup>, Lark KG<sup>2</sup>, Трут ЛН<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия*

<sup>2</sup>*University of Utah, Department of Biology, Salt Lake City, Utah, USA*

На экспериментальной ферме Института цитологии и генетики СО РАН в течение длительного времени ведется селекция серебристо-черных лисиц в двух контрастных направлениях – на усиление ручного и агрессивного поведения по отношению к человеку. Наличие двух контрастных по поведению популяций лисиц, аккуратных родословных на протяжении всех лет селекции, а также ведущаяся на протяжении последних лет совместная с Корнельским Университетом (США) работа по созданию генетической карты лисицы, позволяет вести поиск генов количественных признаков. Начиная с 2003 года в лаборатории эволюционной генетики ИЦиГ проводится совместная работа с Университетом Юты (США) по изучению морфологических (скелетных) признаков у лисиц, а также поиск ассоциаций на генетическом уровне между морфологическими и поведенческими признаками.

Первый этап работы был посвящен сравнительному анализу фенотипической изменчивости параметров скелета серебристо-черных лисиц и изучению структуры этой изменчивости в популяциях лисиц. Для этого нами проведено фенотипирование лисиц из пяти популяций, созданных на экспериментальной лисьей ферме: ручной, агрессивной, гибридной между ручными и агрессивными (F1), потомков от возвратных скрещиваний F1 на ручного либо агрессивного родителя, и популяции неселекционированных по поведению лисиц. Измерения скелетных признаков проводили на рентгеновских снимках. Полученные морфологические данные обработаны методом главных компонент. Компоненты представляют собой новые интегральные показатели, в каждую из которых исходные признаки входят с определенным весовым коэффициентом и знаком. В результате для каждого животного набор исходных промеров был преобразован в одно значение по каждой из компонент. Полученные новые признаки (главные компоненты) ведут себя как единое целое при формировании фенотипа и есть основания предполагать, что при отборе они также наследуются совместно.

Основная доля изменчивости морфологических признаков лисиц (около 56%) описывается первыми пятью компонентами. Первая описывает вариации общих размеров тела (41% вариации). Более интересными являются последующие компоненты, описывающие вариации пропорций тела. Во вторую по значимости компоненту, описывающую 6,4% морфологической вариации, признаки ширины входят с отрицательным вкладом, и противопоставлены признакам длины (все они вносят в PC2 положительный вклад). Т.е., можно сказать, что лисицы с относительно короткими конечностями и носом, будут иметь более широкие конечности и скулы. В четвертой компоненте (3%) краниальные признаки преимущественно противопоставлены посткраниальным. Т.е., особи с узкими конечностями и тазом и низкой массой тела вероятнее всего будут иметь большую голову с широкими челюстями.

По среднепопуляционным значениям третья и четвертая компоненты, имеющие высокий «популяционный коэффициент детерминации», достоверно дифференцируют ручных животных от агрессивных. В то же время по второй и третьей компонентам бэккроссы близки к ручным. Т.е., показанные различия между популяциями по морфологическим главным компонентам свидетельствуют об изменении пропорций тела при отборе по поведению. Эти различия являются наследуемыми: для пяти первых компонент величина наследуемости составляет от 40 до 65%.

Полученные в результате компонентного анализа новые интегральные показатели (компоненты) могут быть использованы для дальнейшего молекулярно-генетического анализа количественных морфологических признаков лисиц.

## КВАЗИЦИКЛ «ГЕН-ПРОГЕН» И ЭВОЛЮЦИЯ

Чадов Б.Ф.

*Институт цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск, 630090, Россия*

*chadov@bionet.nsc.ru*

**В эволюционной биологии расширяется теоретический подход.** Генетические исследования последнего времени позволили приблизиться к формулировке понятия «жизнь». Вопрос об эволюции можно рассмотреть теперь в рамках дедуктивного подхода. В докладе дается толкование базовых понятий «*ген*», «*проген*» и модели отношений между ними (*квазицикла*). Модель квазицикла позволяет определить сущность живого, а эволюцию живого представить в виде одного из её проявлений.

**Понятия «ген» и «проген».** *Прогеном* предлагается считать участок молекулы ДНК. *Гены* – подвижные информационные продукты, образующиеся на ДНК. Проведенное переименование позволяет формализовать отношения между геном и прогеном.

**Квазицикл «ген-проген».** Процесс активации геном прогена, который в свою очередь продуцирует другой ген, назвали квазициклом. Циклом потому, что он начинается и кончается геном, а квазициклом («почти» циклом) потому, что гены в начале и конце цикла – разные. Онтогенез состоит из множества последовательных квазициклов. Квазицикл проходит и через акт зарождения нового организма. Квазицикл – энергозахватный процесс. *Процесс незатухающей абсорбции и сохранения свободной энергии в циклической реакции является сущностью процесса, называемого жизнью.* Специфичность генов и прогенов позволяет процессам двигаться в определенной последовательности (по программе). Программа представляет собой цикл, состоящий из квазициклов. Цикл обретает «цель» в виде определенного квазицикла.

**Развитие по программе (онтогенез) и развитие как изменение самой программы (эпигенез).** Количество энергии, находящейся в циркулирующем виде зависит от количества компонентов цикла и числа связанных между собой циклов. Живой организм – комплекс циклов. Живые организмы объединены циклами более высоких порядков, включая биосферный. Развитие по однажды возникшей программе онтогенеза может идти сколь угодно долго без изменения, полностью соответствуя своему предназначению (адсорбции энергии в режиме циркуляции). Цикл, состоящий из квазициклов, может расшириться за счет включения в свой состав нового члена, а также стать членом цикла более высокого ранга. Это происходит в результате мутационных изменений прогенов (*эпигенез*). Эпигенез ведет к последствиям эволюционного порядка.

**Генетическая модель квазицикла и эволюция.** Модель в общем виде описывает реальные генетические события и в тоже время может служить основой для разработки проблем живой материи. С позиции квазицикла могут быть рассмотрены вопросы возникновения жизни, химической эволюции, зарождения и совершенствования генетического кода, размножения и экспансии живого, проблемы образования видов, биоценозов и биосферы в целом. По новому могут быть рассмотрены традиционные вопросы эволюционной биологии: роль ортогенеза и отбора в эволюции, целеполагание в живой природе, роль внешней среды в эволюционном процессе.

Работа поддержана грантом РФФИ и программой «Происхождение и эволюция биосферы».

## CANINE MORPHOLOGY AS A MODEL SYSTEM FOR ANALYZING ASPECTS OF GENETIC ARCHITECTURE

Kevin Chase,  
*University of Utah, USA*

Dogs and foxes present a model system of genetic architecture. The dog and fox, canine phylogenetic lineages separated by 10 million years, present an unequalled opportunity to analyze the genetic architecture that underlies the variation and evolution of morphology. Multiple dog breeds (genetic isolates) with well documented histories (pedigrees) present populations with fixed traits as well as other populations in which traits are still segregating. The populations developed by Belayaev present a useful set of fox populations for comparison.

Several examples from dogs will be presented to illustrate the potential of these populations and their novel ability to illuminate aspects of morphology. These include: size sexual dimorphism; genetic regulation of functional morphology; and the impact of size on longevity.

Foxes exhibit variations in morphology similar to dogs. These suggest trade-offs in functional morphology along axes that contrast speed vs force production or that distinguish between functional aspects of front and hind limb anatomy. In the future, comparing the two species should illuminate the genetic changes that accompany the evolution of similar aspects of functional morphology.

## СОСТОЯНИЕ РЕНИН-АНГИОТЕНЗИННОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС ЛИНИИ НИСАГ

О.П.Черкасова, А.Л.Маркель\*

*Институт лазерной физики СО РАН, Институт цитологии и генетики СО РАН\*,  
Новосибирск, Россия*

Созданная в Институте цитологии и генетики СО РАН линия крыс с наследственной индуцированной стрессом артериальной гипертензией (НИСАГ) характеризуется изменениями в организме, которые свойственны гипертонической болезни человека. К настоящему времени проведены исследования основных физиологических систем крыс линии НИСАГ, однако компоненты ренин-ангиотензинной системы (РАС) не исследовались в полном объеме.

Цель работы состояла в сравнительном анализе активности ренина и ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) в плазме крови и различных тканях у крыс линии НИСАГ и нормотензивных крыс линии WAG в интактном состоянии и при различных стимулах.

Активность ферментов определяли разработанными нами методами с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Обнаружено, что у крыс линии НИСАГ активность АПФ в тканях разных органов не отличается от таковой у крыс линии WAG, а в плазме крови – достоверно ниже. В то же время активность ренина в коре почки была достоверно ниже, чем у нормотензивных крыс, при одинаковых значениях в плазме крови.

Таким образом, в интактном состоянии уровень функционирования ренин-ангиотензинной системы у взрослых крыс линии НИСАГ снижен, однако различные стимулы приводят к гиперреактивности этой системы по сравнению с нормотензивными крысами.

Работа поддержана грантом РФФИ № 05-04-48567



«ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФИЛОГЕНЕЗА»

Rustem N. Tchuraev  
*Inst. of Biol., Ufa Scientific Centre of Russian Academy of Science*  
450054, Prospect Oktybrya, 69, Russia  
fax: 347-235-62-47, E-mail: [tchuraev@anrb.ru](mailto:tchuraev@anrb.ru)

«Естественный отбор только модифицирует  
те или иные свойства, тогда как избыточность  
творит новые».

Сусомо Оно (1970)

Перефразируя определение К.Х.Уолингтона (1952) предмета *эпигенетики* на современном языке, можно сказать, что к этой области относится изучение генных и эпигенных сетей, поскольку причинные взаимодействия между генами на молекулярном уровне осуществляются регуляторными генопродуктами (малыми РНК, белками, мультимерными комплексами, метаболитами) разной специфичности, реализующими информационные связи между генами и эпигенами.

Данная лекция посвящена рассмотрению процессов филогенеза, начиная с пробионта, с позиций неканонической теории наследственности, согласно которой необходимым условием хранения, кодирования, передачи и реализации наследственной информации является организация генов в управляющие генные и эпигенные сети.

Введена иерархия филогенетических процессов по быстродействию: макро-, микро- и мегафилогенез. Характерные времена процессов макро-, микро- и мегафилогенеза различаются соответственно, по крайней мере, на три порядка. Введение временной иерархии филогенетических процессов позволило при их математическом описании выявить качественные картины поведения филогенетических траекторий на больших отрезках времени, сравнимых с геологическими периодами. Также предложен способ реконструкции древней и древнейшей филогенетической истории произвольного представителя любого таксона посредством применения закона, обратного биогенетическому закону Геккеля-Мюллера, что позволило получить ряд утверждений о начальных стадиях филогенеза.

Пьер Тейяр де Шарден (1987) ввел понятие *преджизни* и *древа жизни*. На современном языке *преджизнью* можно называть абиотическую стадию развития сложных высокомолекулярных автономных систем, способных к самовоспроизведению, но не отделенных оболочкой от внешней среды – источника физических и информационных ресурсов (*предфилогенез*), а *древом жизни* – филогенетическое древо.

Физико-химические модели Эйгена, Шустера, Ратнера и Шамина простейших молекулярных систем, состоящих из полинуклеотидных и полипептидных матриц, показали возможность существования некоторого класса самовоспроизводящихся систем: *гиперциклов* Эйгена или сайзеров.

Показано, что сайзеры способны к самовоспроизведению только в условиях избытка метаболитов и термодинамического оптимума. В условиях, когда лимитирует хотя бы одна из низкомолекулярных компонент, необходимая для функционирования этих систем, сайзеры (гиперциклы) деструктурируются. Поскольку *живые системы* (v-системы) открыты и функционируют вдали от термодинамического равновесия, то необходимым условием их существования в последовательных циклах размножения являются наличие:

а) полупроницаемой оболочки, препятствующей диссипации ее компонент и демпфирующей быстрые скачки значений физических факторов среды, а также позволяющей аккумулировать вещество/энергию и информацию;

б) системой управления самовоспроизведением, позволяющей посредством слабых в энергетическом смысле воздействий управлять внутренними потоками вещества и энергии при воспроизводстве высокомолекулярных компонент молекулярных систем кодирующих полимеров и метаболитов.

Уже в макроэволюции значение отбора вряд ли велико, поскольку на макроотрезках времени могут существовать только устойчивые в ряду поколений *v*-системы, уже адаптированные в ходе микрофилогенеза к соответствующим экологическим нишам. Что касается мегафилогенеза как многошагового процесса с характерными временами, сравнимыми с геологическими периодами, говорить о движущей силе естественного отбора просто бессмысленно, поскольку механизм элиминации «наименее приспособленных» должен включать в себя факторы планетарного масштаба, носящие характер глобальных катастроф, когда исчезают целые таксоны и прерываются каналы наследования, делая филогенез данной ветви древа жизни невозможным.

Поэтому можно полагать, что хотя на малых отрезках «геологического времени» в условиях лимитов на ресурсы и действует принцип «Struggle for Life», в целом в макро- и мегафилогенезе *живой мир, биосфера развивается в стремлении к гармонии, равновесию как между отдельными видами, так и более крупными таксонами.*

Кроме того, показано, что эпигены и эпигенные системы упорядочивают общую наследственную изменчивость и, тем самым, до определенной степени канализируют эволюционный процесс. Эти системы дают возможность реализации *недарвиновской эволюционной стратегии*. Введено понятие *виртуального канала наследования*, связывающего произвольную особь через цепочку «родитель-потомок» со всеми ее предками, начиная с первых пробионтов. Рассматривая канал наследования как канал передачи из поколения в поколение наследуемого запаса информации, необходимого для самовоспроизведения, для живых систем получен закон сохранения наследственной информации в цепи «предок-потомок», проявлением которого и является феномен наследственности.

## СТОХАСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДИНАМИКИ ПОПУЛЯЦИИ ХИЩНИКА - ЖЕРТВЫ

Чуркин А.С., Букин Ю.С.

*Лимнологический институт СО РАН, Иркутск, Россия*

В настоящий момент времени накопилось большое количество статистических данных о зависимостях массы тела организмов различных видов от возраста. Многие из рассматриваемых видов являются участниками экологических систем организмов, взаимодействующих по типу хищник – жертва. В связи с этим встает вопрос о разработке моделей описывающих динамику популяций в таких системах организмов с учетом масс тел и возрастов взаимодействующих организмов.

В нашей работе мы предлагаем простейшую стохастическую компьютерную модель динамики популяций организмов, взаимодействующих по типу хищник - жертва с учетом изменения масс тел организмов.

Предлагаемая нами модель основана на следующих предположениях: каждая особь, как в популяции хищника, так и жертвы обладает характеристиками - масса тела и возраст. В модели задан предельный возраст особей  $V_k$ , критическая масса  $m_k$ , при которой особь умирает, и масса, при достижении которой особь может произвести потомство  $m_{\text{rogd}}$ . За каждый временной шаг симуляции у жертв уменьшается масса на заданную величину и увеличивается на величину, которая обратно пропорционально зависит от вместимости среды  $\beta$  (применительно для жертв) и общего числа жертв на данный момент. У хищника масса увеличивается на заданный процент от массы, съеденной им жертвы. За каждый временной шаг симуляции жертва может умереть от старости, при достижении  $V_k$  или от голода, потому что её масса стала меньше  $m_k$ . Также каждая жертва с определенной вероятностью  $P_{\text{smerti}}$  может быть съедена хищником. За каждый временной шаг симуляции хищник может, также как и жертва, умереть от старости или от голода.

При проведении численного эксперимента менялись в заданном диапазоне  $\beta$  – вместимость среды для жертв и  $P_{\text{smerti}}$ , - вероятность смерти жертвы от хищника. Для каждого из заданных параметров в модели оценивалась закономерность изменения численности хищников и жертв во времени.

В результате численных экспериментов было установлено, что увеличение параметра  $\beta$  вначале приводит как к увеличению численности, как жертв, так и хищников. Далее, при очень больших  $\beta$  численность жертв и хищников начинает резко падать. Это связано с тем, что большая вместимость среды (для жертв) приводит к большой скорости размножения (для жертв). Это в свою очередь, приводит к резкому увеличению численности хищников с последующим падением численности в обеих популяциях.

При небольших вероятностях смерти жертв от хищников с течением времени наблюдается достаточно стабильная численность, как жертв, так и хищников, что соответствует поведению численности организмов в некоторых естественных популяциях. При больших значения  $P_{\text{smerti}}$  наблюдается колебательный характер изменения численности жертв и хищников, как и в классической модели Вольтера - Лотки.

Адрес для переписки: e-mail: [mkc@bdv.ru](mailto:mkc@bdv.ru)

ПЛЕЙОТРОПНОЕ ВЛИЯНИЕ МУТАЦИЙ В ЛОКУСЕ *AGOUTI*,  
КОНТРОЛИРУЮЩЕМ ОКРАСКУ, НА ПОСТНАТАЛЬНОЕ СТАНОВЛЕНИЕ  
КОРТИКОСТЕРОИДНОЙ ФУНКЦИИ НАДПОЧЕЧНИКОВ У САМЦОВ МЫШЕЙ.

А.Ю. Шевченко

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

Гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система играет важную роль в регуляции адаптивных свойств организма к меняющимся условиям среды. Мутации в локусе *Agouti*, контролирующем окраску, не только изменяют цвет шерсти, но и влияют на активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Показано, что у взрослых мышей доминантная мутация *Agouti yellow* (желтый цвет шерсти) и рецессивная мутация *nonagouti* (черный цвет шерсти) влияют на стероидогенез в надпочечниках. Окончательное становление кортикостероидной функции надпочечника у мышей происходит в первый месяц жизни. Возможно, изменение стероидогенеза у взрослых мышей с мутациями в локусе *Agouti* обусловлено влиянием данных мутаций на становление функции надпочечника в раннем постнатальном онтогенезе.

Цель работы – изучить плеiotропное влияние мутаций в локусе *Agouti* на процесс становления кортикостероидной функции надпочечников у самцов мышей в раннем постнатальном периоде развития. Работа проводилась на самцах-сибсах мышей линии C57Bl/6J двух Агути-генотипов:  $A^y/a$  (гетерозиготы по доминантной мутации *Agouti yellow*) и  $a/a$  (гомозиготы по рецессивной мутации *nonagouti*).

У мышей оценивали базальный уровень кортикостерона в крови в первый месяц жизни (1, 2, 3, 4 недели) и после полового созревания (10 и 15 недели). В 1 неделю уровень кортикостерона в крови у мышей обоих генотипов был очень низкий. Затем уровень гормона повышался, и в 3 недели достигал максимальных значений, в 7 раз превышающих базальный уровень взрослых животных. У 3-нед  $A^y/a$ -мышей пик кортикостерона в крови был в 1,5 раза меньше, чем у  $a/a$ -мышей. Известно, что третья неделя жизни является критическим периодом в становлении кортикостероидной функции надпочечника. Для исследования влияния в этот критический период мутаций в локусе *Agouti* на становление функции надпочечника у 3- и 15-нед. мышей оценивали 1) кортикостероидную реакцию при активации *in vivo* (рестрикционный стресс) и *in vitro* (экзогенный АКТГ), 2) активность аденилатциклазы и внутриклеточных ферментов стероидогенеза в клетках надпочечника *in vitro*.

В экспериментах *in vivo* и *in vitro* мы показали, что у 3-нед. животных обоих генотипов по сравнению с 15-недельными была повышена кортикостероидная функция надпочечника как в базальных условиях, так и при стимуляции. У 3-нед.  $A^y/a$ - и  $a/a$ -мышей не было различий в стимулированной продукции кортикостерона *in vivo* и *in vitro*. В возрасте 15 недель у  $A^y/a$ -мышей реакция на рестрикционный стресс и экзогенный АКТГ была выше, чем у  $a/a$ -мышей. У  $A^y/a$ - и  $a/a$ -мышей в возрасте 3- и 15-недель активность аденилатциклазы была одинаковой, но у них была различной возрастная динамика ее изменений. Мутации в локусе *Agouti* влияли на чувствительность ферментов стероидогенеза к действию цАМФ: у  $A^y/a$ -мышей как в 3 нед., так и в 15 нед. возрасте продукция кортикостерона, стимулированная цАМФ, была выше, чем у  $a/a$ -мышей.

Таким образом, мы показали, что мутации в локусе *Agouti* оказывают плеiotропное влияние на становление кортикостероидной функции надпочечника. Мыши различных Агути-генотипов на 3 недели жизни отличаются по уровню кортикостерона в крови, чувствительности ферментов стероидогенеза к действию цАМФ, возрастной динамике активности аденилатциклазы. Возможно, обнаруженные нами ранее различия в

стероидогенезе у взрослых  $A^y/a$ - и  $a/a$ -мышей обусловлены изменениями в становлении кортикостероидной функции надпочечников в раннем постнатальном развитии, а именно во время критического периода на третьей недели жизни.

*Работа поддержана молодежным проектом Лаврентьевского конкурса СО РАН, грантами научные школы 7071.2006.4 и РФФИ № 04-04-48760.*

## ПРЕДСКАЗАНИЕ ПРОСТРАНСТВЕННОЙ СТРУКТУРЫ 3'-UTR мРНК GRO1, ОБЩЕЙ ДЛЯ ДВУХ ВИДОВ ПАРНОКОПЫТНЫХ

Юдин Н.С., Потапова Т.А., Кушнир А.В., Ромащенко А.Г.  
Институт цитологии и генетики СО РАН

Ковариационный анализ нуклеотидных последовательностей широко используется для предсказаний вторичной структуры РНК (Hofacker et al., 1998). Основа метода заключается в выявлении тех позиций в структуре РНК разных видов эукариот, которые согласованно изменяются с сохранением её вторичной структуры. Несмотря на происходящие замены нуклеотидов в ходе формообразования в потенциальных двухцепочечных областях молекул РНК, спаривание оснований поддерживается должным образом. Изменения в последовательности РНК петель и одноцепочечных областей не имеют такого ограничения. Нами была определена нуклеотидная последовательность 3'-нетранслируемой области гена GRO1 (3'-UTR) представителя семейства оленевых из отряда парнокопытных - северного оленя *Rangifer tarandus* (Юдин и др., в печати). Известна также последовательность ДНК гена-ортолога быка *Bos taurus* (Grosse et al., 1999), относящегося к семейству полорогих того же отряда. Цель работы – предсказание методом ковариационного анализа общей вторичной структуры 3'-UTR мРНК GRO1 для этих двух видов парнокопытных.

Ковариационный анализ вторичной структуры мРНК проводили с использованием сервера GeneBee-NET (Бродский и др., 1995).

Выравнивание без пробелов последовательностей 3'-UTR гена *GRO1* северного оленя и быка размером 266 п.н. показало несовпадение в 13 позициях. Предсказание потенциальных вторичных структур мРНК с энергетическим порогом -4 ккал/моль выявило наличие 8 вероятных дуплексов размером от 2 до 8 п.н. с энергией образования от -6.3 до -15.2 ккал/моль. На основании этой информации была построена модель наиболее вероятной стебель-петлевой структуры 3'-UTR мРНК GRO1. В предложенной модели все нуклеотиды, формирующие потенциальные двухцепочечные участки, консервативны у обоих видов и 13 нуклеотидов, различающихся у разных видов, приходятся на участки одноцепочечной РНК.

Таким образом, нами предсказана наиболее вероятная вторичная структура 3'-UTR мРНК GRO1, общая для двух видов отряда парнокопытных – северного оленя и быка. Полученные данные свидетельствуют о согласованности изменений в её структуре, с сохранением районов дуплексов в неизменном виде.

Работа финансировалась Программой РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов».

## THE LONG MARCH FROM MAPPED LOCI TO IDENTITY GENES AND MUTATIONS

Acland G<sup>1</sup>, Goldstein O<sup>1</sup>, Ostrander E<sup>2</sup>, Akey D<sup>3</sup>, Zanglerl B<sup>4</sup>, Pearce-Kelling S<sup>5</sup>, Felix J<sup>5</sup>,  
Aguirre G<sup>4</sup>, Kukekova A<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Baker Institute for Animal Health, Cornell University, Ithaca, NY, 14853 USA*

<sup>2</sup>*Cancer Genetics Branch, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 20892 USA*

<sup>3</sup>*Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, WA, 98195 USA*

<sup>4</sup>*School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, 19104 USA*

<sup>5</sup>*Optigen, Ithaca, NY, 14850 USA*

Progress in mapping genetic traits frequently hits a major impediment after an initial success in mapping the critical locus or loci. Occasionally the initial mapping result will identify a limited number of attractive positional candidate genes, and identification of a causative mutation is relatively straightforward. Frequently, however, the mapped interval is large, encompasses multiple genes, and fine mapping becomes extremely arduous. The recent virtual explosion of tools for canine genomics has helped greatly to circumvent this roadblock for canine traits. The question is: how can lessons learned from canine genetics help the effort to identify the genes and sequence variants determining behavioral traits in silver foxes? Three examples will illustrate a strategy for completing the march from a mapped canine locus to the identified gene and mutation, and identify the tools needed to make equivalent progress in mapping behavioral loci in the silver fox.

Progressive rod-cone degeneration (*prcd*) is an autosomal recessive hereditary retinal degeneration that affects several breeds of dog. The preliminary mapping of the *prcd* disease locus to canine chromosome 9 (CFA9) was achieved in 1997. Because of the limited tools then available progress in fine mapping was very effort-intensive. It took almost 10 years to reduce the candidate interval from several megabases to approximately 150 Kb. Taking advantage of the fact that *prcd* was allelic in multiple breeds, we used linkage disequilibrium (LD) to narrow the candidate region. Multiple dog breeds were typed for SNPs and other polymorphisms identified from BACs and a fine-scale haplotype of the region developed, which reduced the LD interval to 106 kb and identified a conserved haplotype of 98 polymorphisms present in all *prcd*-affected chromosomes from 14 different dog breeds. All previously recognized genes in this interval proved to have normal sequence in *prcd*-affected dogs. A novel gene mapping to this area was identified in a canine retinal EST library, and subsequently found to have a (TGC --> TAC) mutation in codon 2 on all *prcd*-affected chromosomes tested in 18 different dog breeds and varieties. The success of this effort clearly indicates that a common ancestor transmitted the *prcd* disease allele to many of the modern dog breeds and demonstrates the power of the LD approach in the canine model. During the period of this effort, however, the tools for canine genomics expanded enormously, as did our understanding of how to use them, and how to take advantage of the population structure both within and among breeds of dog. In retrospect, given the currently available tools, and the wisdom of hindsight, the task could be replicated today very much more rapidly and efficiently.

Collie Eye Anomaly (*cea*) is a complex disorder of chorioretinal and scleral development which segregates in several herding breeds including Collies, Border collies, Australian Shepherds and Shetland Sheepdogs. After mapping the primary locus for *cea* to CFA37, we adopted a multibreed LD approach to fine mapping. As for *prcd*, this approach enabled the candidate gene region to be narrowed to a 105 Kb interval spanning four genes. Sequence

analysis revealed that all affected, but no unaffected dogs, were homozygous for an 8 Kb intronic deletion in one of these genes, that appears to be the causative mutation.

Rod-cone dysplasia type 2 (*rcd2*) is an early onset autosomal recessive hereditary retinal degeneration that apparently only segregates in the Collie dog breed. Initial mapping located this to CFA7, but the zero recombination interval was large, encompassing too many genes to practically evaluate. Unlike *prcd* and *cea* however, there were not multiple breeds segregating *rcd2*. However, careful pedigree analysis combined with coarse SNP haplotyping revealed different SNP haplotypes cosegregating with *rcd2* in 3 distinctly different cohorts of *rcd2*-affected collies. In the largest of these cohorts all *rcd2*-affected dogs clearly shared common ancestry at a pedigree depth of between 6 and 10 generations, and all shared the same SNP haplotype thru the zero recombination interval. The other 2 cohorts had no detectable ancestors in common with each other, or with cohort 1, for a pedigree depth exceeding 13 generations. Each of these cohorts had a distinctly different SNP haplotype cosegregating with *rcd2*. This observation prompted SNP haplotyping to proceed at higher resolution, until eventually a candidate region was identified in which the haplotype for each cohort was identical. This interval was just 150 kb in size, and included only 3 candidate genes. Sequence analysis established that a coding region deletion in one of these genes cosegregates with *rcd2*, and appears to be the causal mutation.

So the question is, can we apply these lessons to the silver fox project? We have already identified QTLs for significant aspects of the hereditary fox behaviors - how can we proceed to identify the critical sequence variants lying within these regions? Clearly the first tool that we need but presently lack is a SNP map of the fox genome. From experience in canine mapping, we can estimate that we need informative SNPs located at about 50 Kb intervals to identify and distinguish segregating haplotypes. If the density of SNPs in the fox genome is similar to that in the dog, then there should be one SNP about every 500 to 1500 bp. In theory, this could be done by partially sequencing the fox genome, in fragments sized between say 1 and 4 Kb located at approximately 50 Kb intervals, from one F1 fox. This would mean that only about 8% of the genome need be sequenced, if we could efficiently sequence and assemble only the critical 8%. This fraction of the genome would have to be sequenced to something like 6x or more to be certain that both alleles of a SNP are seen more than once, and the small fragments can be assembled. The assembled fragments could be ordered against the canine genome sequence and a fox RH map. This would provide a SNP map sufficiently dense to allow a linkage disequilibrium based association study to define the haplotypes under selection in tame and or aggressive populations in regions identified as containing QTLs for hereditary behavior.



## UNCOVERING THE GENETIC BASIS FOR TAMENESS – A MODEL FOR ANIMAL DOMESTICATION

Frank W. Albert<sup>1</sup>, Leif Andersson<sup>2</sup>, Irina Plyusnina<sup>3</sup>, Torsten Schöneberg<sup>4</sup> and Svante Pääbo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Department of Evolutionary Genetics, Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany*

<sup>2</sup>*Department of Animal Breeding and Genetics, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden*

<sup>3</sup>*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

<sup>4</sup>*Institute of Biochemistry, Molecular Biochemistry, Medical Faculty, University of Leipzig, Leipzig, Germany*

Domestication of animals has played an important role in the development of agricultural human societies. Genetic analyses have provided insights into the timing, location and number of domestication events for many domestic animal species. Domesticated animal species differ widely in the physiological traits that differentiate them from their wild ancestors. They do however share the trait of tameness, i.e. they tolerate human presence and handling. Despite the identification of genes influencing physiological traits such as coat color in dogs or muscularity in pigs, the genetic basis for tameness remains unknown.

In order to uncover the genetic basis for tameness, we are studying a unique mammal model initiated by D.K. Belyaev and continued to this day by his colleagues. Two lines of wild-caught rats (*Rattus norvegicus*) were selected over more than 60 generations for reduced and enhanced aggressive and fearful behavior towards humans. Today, the rat lines differ drastically in their behavioral response towards humans. Tame rats tolerate being touched and handled, and frequently approach a human hand. Aggressive rats flee from and attack an approaching hand. We have recently established daughter colonies of both lines at the Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology in Leipzig, Germany, and are pursuing three lines of investigation.

First, in order to better understand the biology underlying the drastic differences in behavior, we have conducted a series of experiments into the animals' behavior, physiology, and morphology. Building on previous work performed by D.K. Belyaev and his colleagues, we found differences in anxiety and fear behavior, organ size, steroid hormone concentrations, brain neurochemistry and in several serological parameters.

A second line of research is focused on the analysis of gene expression patterns in the tame and aggressive rats and several domestic animal species such as pigs and chicken. Using microarray data from domesticates and their wild counterparts, we explore to what extent similarities exist between gene expression patterns in separate domestication events.

Third, in order to identify genomic loci underlying tameness, we are performing a quantitative trait locus (QTL) mapping. To this end, we have crossed the tame and the aggressive rats, and intercrossed the resulting F1 generation to produce an F2 population. We have obtained phenotype data from 692 F2 animals, on behavioral, morphological and serological measures. A genome scan using 200 microsatellite markers is underway. These data will provide insight into the genetic architecture of tameness in this model system, and serve as a starting point for research into the genetics of behavioral aspects of domestication in other animal species.

---

## FUNCTIONAL AND GENETIC IDENTIFICATION OF LINEAGE COMMITTED INTRATHYMIC PROGENITORS IN ADULT MICE

Belyaev N.N., Brown D., Garcia-Diaz A.I., Biro J. and Potocnik A.J.  
*MRC National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, NW7 1AA, UK*

T-lymphocytes are an essential component of the adaptive immune system and require a distinct anatomical location for their development, namely the thymus. This study focuses on early events during development of these cells in the adult mouse.

The most immature compartment of murine thymocytes is subdivided by the cell surface expression of CD44 and CD25. The most primitive progenitor population resides in the CD44<sup>+</sup>CD25<sup>−</sup> double negative 1 (DN1) fraction and can be further subdivided according to expression of the receptor tyrosine kinase c-kit (CD117). The DN1 CD117<sup>+</sup> fraction is homogeneous, unlike the CD117<sup>−</sup> fraction which constitutes a preponderant CD45RB<sup>+</sup>CD127<sup>−</sup> population and a smaller CD45RB<sup>−</sup>CD127<sup>+</sup> population.

Analysis of gene expression was employed to understand the relationship between the DN1 CD117<sup>+</sup> (DN1 c-kit) and the DN1 CD45RB<sup>+</sup> (DN1 B220) populations. Expression of genes associated with the T-cell lineage, such as GATA-3, Notch-1 and preT $\alpha$  was observed in both populations. Furthermore, substantial expression levels of genes involved in T-cell commitment, such as preT $\alpha$ , in the DN1 B220 population could reflect the initiation of T-cell fate specification.

In parallel, a Cre *recombinase* based lineage tracing approach was utilised to further dissect the earliest thymocyte pools. Upon expression of the Cre *recombinase*, all cells and their progeny are permanently marked by the expression of a fluorescent reporter protein. In this study, the human CD2 (hCD2) promoter and locus control regions drove expression of the Cre *recombinase*. Analysis of the DN1 population revealed that nearly all the DN1 c-kit fraction was reporter negative, whereas the DN1 B220 subset was completely reporter positive. Since expression of hCD2 has so far been reported only in the lymphoid lineage, this observation further underlines the fundamental differences between the two progenitor fractions and indicates their alternate developmental origins.

To address the developmental potential of these populations, the DN1 c-kit and the DN1 B220 pools were functionally assessed *in vitro* and *in vivo*. The DN1 c-kit population showed a robust T-, B- and NK-cell potential *in vitro* and *in vivo*, in addition to a residual myeloid activity *in vivo*, whereas the DN1 B220 fraction was strongly biased towards a CD8 NK-T cell lineage *in vivo*.

In summary, these data indicate that developmentally distinct progenitor populations seed the adult murine thymus and can potentially contribute to discrete subsets of mature haematopoietic cells.

---

## GENETIC RECOMBINATION IN THE LIGHT OF EVOLUTION

P.M. Borodin

*Institute of Cytology and Genetic SB RAS, Novosibirsk 630090, Russia*

[borodin@bionet.nsc.ru](mailto:borodin@bionet.nsc.ru)

Recombination is a process that promotes gene shuffling in the progeny and insures genetic uniqueness of each individual. This process has been discovered in the beginning of XX century, but it still poses a lot of difficult problems. What are the advantages of sexual reproduction and genetic recombination? Why meiotic recombination is organized in a wasteful, cumbersome and illogical way? How the hot and cold spots of recombination are distributed along the genomes and what is the biological sense of such distribution? In this report I try to answer some of these questions looking at the genetic recombination in the light of evolution.

First, I evaluate several hypotheses explaining the advantages of sexual reproduction and genetic recombination: (1) an increase of genotypic/phenotypic variability favorable in variable environments and as an adaptation to resist parasites (2) elimination of slightly deleterious mutations due to generation of mutationally overloaded gametes, (3) repair of DNA damages due to gene conversion.

Then I demonstrate that molecular mechanisms of meiotic recombination have evolved from ancestral prokaryote and somatic cell functions of DNA replication and repair. They retained some of these functions, although in much modified form. They also adopted new functions, becoming the mechanisms of homologous chromosome recognition, alignment, pairing and disjunction. Occurrence of these new functions put stringent constraints on the frequency and distribution of recombination events along the chromosomes.

Finally, I show how a complex interplay between new and old meiotic functions led to formation of species-specific recombination patterns in several species of mammals, studied in our laboratory, and how these patterns were modified by accumulation of various chromosomes rearrangements and genetic divergence accompanying speciation, local adaptations, directed selection, domestication and environmental stress.

This work was supported by research grants from the Programs of RAS "Biosphere Origin and Evolution" and "Biodiversity", INTAS and RFBR.

## BELYAEV'S FOXES SUGGEST ONE PATH BY WHICH PROBLEM SOLVING SKILLS MAY EVOLVE

B. Hare

Max Planck Institute for Evolutionary Anthropology, Leipzig, Germany

We compared the use of human social cues in fox kits from an experimental population selectively bred over 45 years to approach humans fearlessly and non-aggressively to fox kits from a control population not bred for tame behavior towards humans. We found that not only are the experimental foxes as skillful as dog puppies at using human gestures but they are also more skillful than fox kits from the control line. This finding suggested the “emotional reactivity hypothesis” which posits that social problem solving skills can evolve due to selection on systems mediating fear aggression towards others. We have subsequently tested this hypothesis by comparing the problem solving skills of bonobos and chimpanzees in simple cooperative task in which they must work together in order to obtain food. The results of the comparisons between nonhuman apes support the emotional reactivity hypothesis showing that levels of social tolerance within and between species predict performance in the cooperative tasks presented. In addition, this research suggest that flexible forms of cooperation observed in humans only evolved after our possessed a temperament that allowed for high levels of social tolerance.

## EPIGENETIC INHERITANCE AS A MEDIATOR OF GENETIC CHANGES DURING EVOLUTION

*Eva Jablonka and Marion J. Lamb<sup>1</sup>*

*The Cohn Institute for the History and Philosophy of Science and Ideas  
Tel-Aviv University, Tel-Aviv 69978, Israel*

Many years before scientists in the West started to think in terms of epigenetic inheritance, Dmitri Belyaev and his colleagues in Novosibirsk were actively researching in this field. They were studying hereditary phenomena that did not conform to the normal behavior of either nuclear or cytoplasmic genes. Their studies led them to suggest that genes can be transmitted in “dormant” and “non-dormant” states, and that the transitions between the two states were dependent on the physiological state of the organism, which was affected by environmental conditions such as ecological and hormonal stresses. Their work on the domestication of silver foxes was, and remains, one of the most important experiments suggesting a role for induced inherited epigenetic variations in evolution.

In this talk we will focus on one of the aspects that was central to the work of Belyaev and his colleagues: the interaction between genetic and epigenetic inheritance in evolution, especially during conditions of stress. It is now generally accepted that heritable variations in chromatin affect genetic variation by influencing rates of mutation, transposition, and recombination. For example, highly methylated transposable elements in plants rarely move, whereas when the same elements are demethylated they are usually very mobile. When transposable elements move to new locations, they can introduce changes in coding or regulatory sequences, and they are regarded as a major source of mutations, so their epigenetic state (e.g. the extent to which they are methylated) affects the rate at which mutations are generated. Since the movement of some transposable elements is known to be markedly influenced by various types of internal (genetic) and external (environmental) stress, new genetic variants may be more common in circumstances in which the survival of existing forms is threatened.

The relationship between genetic and epigenetic variation in repeated sequences seems to be both intimate and evolutionarily significant. Sequence studies have shown how, during plant and animal phylogeny, developmental genes have been duplicated and re-used, and Rodin and his colleagues have suggested that epigenetic silencing following gene duplication and repositioning can play an important role in the re-usage of the duplicated genes.

Probably of more significance than single gene epimutations or gene duplications are the systemic genomic changes that are mediated through epigenetic control mechanisms and re-pattern the genome. During their work with silver foxes, Belyaev and his colleagues observed that the changes in physiology and behavior that resulted from the stress imposed by domestication were accompanied by the appearance of micro-chromosomes in some cells. More recent work with other organisms suggests that during conditions of genomic and ecological stress, developmentally-induced variations in DNA are often (if not invariably) mediated by chromatin marking or RNA-mediated EISs (epigenetic inheritance systems). Studies of non-Mendelian inheritance in ciliates are revealing the extent and sophistication of the interactions between epigenetic and genetic variations, and the dramatic effects they can have. In plants, genomic stresses such as hybridization and polyploidization induce massive epigenetic and genetic reorganization, and ecological stresses such as nutritional changes can induce significant variations in repeated sequences, probably via epigenetic mechanisms. In many naturally

---

<sup>1</sup> Permanent address: 11 Fernwood, Clarence Road, London N22 8QE, UK

occurring and experimentally induced polyploids and hybrids, DNA methylation patterns are dramatically altered, and genes in some of the duplicated chromosomes are heritably silenced.

In general, it seems that both by increasing selectable variation and by reorganizing genomes, heritable epigenetic variations may have a major role in initiating the divergence and reproductive isolation between populations which leads to speciation.

---

MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL EVOLUTION OF OLIGOCHAETA  
(ANNELIDA, CLITELLATA)

I.A. Kaygorodova, V.G. Liventseva\*

*Limnological Institute SB RAS, Irkutsk 664033, Russia; email: [irina@lin.irk.ru](mailto:irina@lin.irk.ru)*

The complex phylogenetic analysis of evolutionary relations inside of class Clitellata has been studied with use of several genes and sets of discrete morphological attributes. Characteristics of separate species of the basic representatives of Hirudinea, Acanthobdellida, Branchiobdellida and Oligochaeta are included in the analysis. The analysis confirms close relationship between all four groups of Clitellata. The conducted analysis has shown, that group of species belonging currently to subclass Oligochaeta are polyphyletic. It breaks up to three independent branches: water, ground species and Lumbriculida. Lumbriculids, in turn, clustered separately from others oligochaetes and consist related to parasitic clitellates (leeches and leech-like worms). Hirudinea, Branchiobdellida and Lumbriculida form parallel branches of evolution. Obtained data do not contradict a classical hypothesis about a role of family Lumbriculidae as a linking group between parasitic and free-living Clitellata. On the other hand, Lumbriculidae appear to be not an ancestor group to other Oligochaeta and they cannot be recognized as more primitive taxon as during more than 100 years was approved by specialists in oligochaete morphology. Moreover, in a view of the received data we believe that revision of existing system of classification in Clitellata is necessary.

## AT THE PROBLEM OF THE INITIAL EVOLUTION OF THE PALAEARCTIC WARBLERS (SYLVIIDAE, AVES)

*Kvartalnov P.V. Квартальнов Павел Валерьевич*

*Russia, 119992, Moscow, Leninskiye Gory, Lomonosov's Moscow State University,  
Biological Department*

Evolutional interrelations between different groups of birds that belong to the Sylviidae family *sensu* Sibley & Monroe (1998) are completely unknown. The majority of the warblers from the northern Palaearctic belong to the subfamily Acrocephalinae. The monophyly of the group included warblers from the genera *Acrocephalus*, *Cettia*, *Locustella*, *Phylloscopus* and allied seems to be possible, although it is not confirmed by some modern researches (Alström et al., 2006).

Recent Acrocephalinae warblers are rather uniform in general features of their ecology and morphology: all species are quite small insectivorous birds with dull plumages lacked distinct sexual and age polymorphism. The social behaviour of these birds is more diverse. All bush-warblers (*Cettia cetti*, *Horeites* spp., *Urosphena* spp.) with known social systems are polygynous, with rather short and simple, poorly variable male advertising songs; the main part of the other warblers tend to be monogamous (cf. Leisler et al., 2002), male songs are more complex, usually with mimic phrases. It is hard to imagine a possible common ancestor of these groups.

Acrocephalinae warblers are closed phylogenetically to the babblers (subfamily Timaliinae): two groups are thought to be sister taxa. Comparisons between warblers and babblers can give an insight in resolving the problem of warbler evolution.

We investigated biology and social behaviour of warblers in 1999-2005 at the Kalmykia Republic, Krasnodar Region and at the South Ussuriland. Our data about the babblers were gathered from XII.2005 to VI.2006 at the deciduous tropical forest at the southern Vietnam (11° 25' N 107° 25' E) and belong to *Macronous gularis* (MG), *Macronous kelleyi* (MK), *Malacopteron cinereum* (MC), *Pellorneum ruficeps* (PR), *Pellorneum tickelli* (PT), *Malacocincla abbotti* (MA); also were studied laughingthrushes *Garrulax leucolophus* (GL; subfam. Garrulacinae).

Babblers and laughingthrushes start breeding at the dry season (from January or March) and finish nesting at the end of June. Birds of many species (MG, MK, MC, GL) tend to form flocks in nonreproductive period (usually small – about 6 birds), the others (PR, PT, MA) can be seen one at a time, or in pairs. Territory choice usually take place after the pairing, males mark nest sites by means of rather simple loud songs. All studied species are monogamous; extra-pair copulations are rare (except MC). Only GL is a communal breeding species (probably obligate). MA can have two successful breeding attempts in a year; the others are probably single-breeding (although replacement clutches are common).

Babblers in flocks regularly allopreen their partners or relatives. Different babblers (but not laughingthrushes) have similar allopreening displays included a distinct advertising pose demonstrated by the bird that wants to be allopreened. Ritualized allopreening is thought to have a value of maintaining social interactions between familiar birds in flocks. This behaviour can be rarely seen in PR. MA lacks allopreening display, although the latter is partially replaced by another form of behaviour: females during the initial stage of the nesting circle are allofed by their partners.

MA resembles Acrocephalinae birds by lacking flock behaviour and ritualized allopreening (allofeeding is known for *Acrocephalus scirpaceus*). MA shares a number of features with some bush-warblers, among it the general appearance, deep cup-shaped nest, red



eggshell pigments, hatchlings pterilosis, peculiarities of partners participating in breeding activities (males do not construct nests and incubate clutches, but feed chicks), and others. As in bush-warblers, MA males have short poorly variable songs, birds regularly sing after pairing. The MA songs have territorial function and are addressed to neighbours. Male songs of bush-warblers are also addressed to females.

The degree of relatedness between MA and bush-warblers is not clear and can be discussed. Nevertheless, the studying of MA social behaviour and biology can help to understand ways of initial evolution of the Acrocephalinae warblers. The switching to the solitary life in babblers is correlated with changes of the foraging behaviour. Babblers that form flocks search for food in tree or bamboo crones (MC, MK, MG). Birds that belong to solitary species find their food on the ground (PR), close to the ground in bamboo thickets (PT) or catch rather big invertebrate prey in crones of rattan palms that not form continuous plantations (MA).

Babblers are solitary birds, whereas warblers are migratory. Male warblers usually arrive to breeding grounds before females and begin to demonstrate territories. Nevertheless, some monogamous warblers have two distinct variants of pair formation: on territories previously advertised by males or, as in babblers, before the nest site choice (*Phragmaticola aedon*, *Acrocephalus scirpaceus*, *A. agricola*, *Locustella luscinioides*, *Hippolais pallida*, etc.: our data).

We believe that Acrocephalinae warblers could have a common babbler-like ancestor. MA shows how general features of warbler biology and behaviour could be evolved from the babbler type. Bush-warblers preserved babbler-like poorly variable songs and regular singing after pairing, and lost the strictly monogamy and the possibility of pairing outside the male territories. We believe that the prolonged singing period in bush-warblers males, that allows them to mate with more than one female, is shared with a sedentary monogamous ancestor. It could become a preadaptation to polygamy, when got the female advertising function. Reed-warblers, leaf-warblers and birds from relative genera saved monogamy (although some species became polygynous). The complex song of monogamous warblers, usually variable and full of mimicry phrases, could be evolved from the subsong that is known in MA and other babblers and have a variable structure.

Our study was in part financed by the President of Russian Federation Grant (MK-2007), and by several grants of the Russian Fond for Supporting Fundamental Researches (RFFI).

## MAPPING BEHAVIORAL LOCI IN SILVER FOXES

Kukekova AV<sup>1</sup>, Trut LN<sup>2</sup>, Oskina IN<sup>2</sup>, Kharlamova AV<sup>2</sup>, Chase K<sup>3</sup>, Johnson JL<sup>1</sup>,  
Temnykh SV<sup>1</sup>, Shepeleva DV<sup>2</sup>, Pivovarova IV<sup>2</sup>, Vladimirova A<sup>2</sup>, Semenova TI<sup>2</sup>,  
Gulievich RG<sup>2</sup>, Schikhevich SG<sup>2</sup>, Stepika A<sup>2</sup>, Graphodatsky AS<sup>2</sup>, Aguirre GD<sup>4</sup>, Erb HN<sup>5</sup>,  
Lark KG<sup>3</sup>, Acland GM<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Baker Institute for Animal Health, Cornell University, Ithaca, NY, 14850, USA*

<sup>2</sup>*Institute of Cytology and Genetics of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090, Russia*

<sup>3</sup>*University of Utah, Department of Biology, Salt Lake City, Utah, 84112*

<sup>4</sup>*School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA 19104, USA*

<sup>5</sup>*Department of Population Medicine and Diagnostic Sciences, Cornell University, Ithaca, NY, 14850, USA*

Specific strains of silver fox (*Vulpes vulpes*) with markedly different behavioral phenotypes have been developed at the Institute of Cytology and Genetics of the Russian Academy of Sciences. Foxes bred for docility demonstrate a friendly response to humans similar to that of domestic dogs. In contrast, foxes from a strain selected for aggressive behavior are aggressive towards humans, and difficult to handle. Because these genetically determined behavioral differences segregate in pedigrees of a single species they offer an unprecedented opportunity to identify the loci and genes responsible. Although these fox strains have been carefully studied for several decades, only recently it has become possible to consider a systematic approach to identify the loci and molecular mechanisms controlling these behavioral phenotypes. Analysis of the genetic basis of complex phenotypes in canids became feasible with the development of modern tools for the dog genome. During the first phase of the project we developed tools and resources for genetic mapping in foxes and identified three quantitative trait loci (QTLs) affecting behavioral variation in these fox strains.

1) We apply comparative genomic approach to build the first meiotic linkage map of the silver fox. The map has been developed using 320 microsatellites adapted from the canine genome. 286 individuals from 37 fox three-generation pedigrees have been used for map construction. The resulting sex-averaged map covers 16 fox autosomes and the X chromosome with an average inter-marker distance of 7.5 cM.

2) To produce litters informative for genetic analysis, three-generation experimental pedigrees have been developed by crossing tame and aggressive founders, then backcrossing F1 progeny to the tame strain. Each animal from the backcross-to-tame pedigrees has been genotyped with 320 polymorphic markers equally spaced along each fox chromosome.

3) A rigorous system for measuring behavior as a truly continuous variable has been implemented. Behavior of all foxes from experimental pedigrees was evaluated using standardized scheme and videotaped to preserve a permanent record. A comprehensive primary set of objective observations was developed for scoring the physical manifestations of fox behavior during the test. Statistical analysis, including principal-components analysis, was used to dissect out the independent, reseggregating traits underlying the phenotypic variation expressed in these multiple correlated observations. Newly refined method of measuring behavior has identified 50 binary scoreable observations that non-redundantly and reliably distinguished behaviors in the reference populations and experimental cross-breed pedigrees. PC1 accounts for approximately 30% of the total variation in behavior among foxes and is highly significantly related to the expected additive genetic distance between the populations.

4) To understand the genetic differences, between tame and aggressive silver fox populations, that determine their behavioral phenotypes, QTL analysis of the first set of the backcross-to-tame pedigrees have been undertaken. Significant peaks associated with PC1 have been identified on the fox chromosomes 8, 12, and 15. Fine mapping of these loci is in progress.

Identification of loci and genes underlying fox behavioral phenotypes promises to yield insight into the genetics of social behavior and its underlying molecular mechanisms, not only in foxes, but in other mammals, including humans and contribute into our understanding of the animal domestication process.

---

## HERITABLE ADAPTATION IN INBRED PLANTS

K. Gordon Lark  
*University of Utah*

More than half of all annual plants are inbreeding, including most important agronomic plants such as soybean [*Glycine max*]. As a consequence they are homozygous and maintain their functional genomes intact during reproduction. Genetic variants that arise will rapidly become homozygous and such variation will be maintained in successive generations. Without locomotion or behavior, plants must rely on genetic variation to cope with changes in the environment. How is this accomplished by inbreeding plants? How do they evolve adaptation to their environments? What is the source and nature of their genetic variation?

Here we discuss three aspects of recent, as well as not so recent, genetic research that suggest answers to this question:

1) Pre WW 2 research on plant adaptation demonstrated that plants respond to the environment in a “Lamarckian” fashion. This response is, in fact, Darwinian selection at the somatic or cellular level as a consequence of the lack of sequestering a germ line. Moreover, apical meristem inhibition can preserve selected cell genotypes during periods of environment “neutrality”. This property, often used via tissue culture to select soma-clonal variants, presents the plant with an immense cellular target for genotypic variation.

2) Because the functional genome of inbreeding plants is not disrupted during reproduction, the plant can form a network of genotypic interactions that can be adapted in subtle ways to environmental change. Interaction between genetic variants presents the entire genome as a target for genotypic variation. Thus the plant genome itself is also an extremely large target for genetic variation.

3) Recent analysis of rapid mutational variation in animals and yeast has suggested that changes in amino acid repeats within genes can arise with high frequency due to the expansion or contraction of nucleotide repeat sequences. In some cases these have allowed adaptation to environmental selection (such as latitudinal changes in the circadian rhythms of *Drosophila*). In inbreeding plants such variation would allow rapid, focused and reversible response to environmental change. Such change can be tuned to the subtle variation required by a network of genetic loci that cooperatively regulates quantitative response to environmental change.

These three sets of parameters in an inbreeding plant can produce a genetic response to environmental change leading to heritable adaptation.

## MULTI-SPECIES WHOLE GENOME ANALYSIS OF VERTEBRATE CHROMOSOMAL EVOLUTION

Denis M Larkin<sup>1</sup>, Greg Pape<sup>2</sup>, Loretta Auvi<sup>2</sup>, Ravikiran Donthu<sup>1</sup>, Michael Welge<sup>2</sup>, and  
Harris. A. Lewin<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>*Department of Animal Sciences, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA,* <sup>2</sup>*National Center for Supercomputing Applications, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA,* <sup>3</sup>*Institute for Genomic Biology, University of Illinois at Urbana-Champaign, Urbana, IL 61801, USA*

Multi-species comparison of high resolution maps and genomic sequences has demonstrated that 20% of all evolutionary breakpoints in mammalian genomes are “reused” in evolution, and that homologous synteny blocks (HSBs) spanning up to 50 Mbp are conserved for ~100 My (Murphy et al., *Science* 309:613, 2005). The aim of the present work was to resolve evolutionary chromosome breakpoints to a higher degree of precision to understand the sequence features that characterize the breakpoint regions. In addition, we aimed to identify the largest HSBs for the purpose of understanding why HSBs have been conserved over hundreds of millions of years of vertebrate evolution. To accomplish these aims an enhanced version of the *Evolution Highway* multi-species chromosome browser was developed for identification and visualization of highly conserved regions and lineage-specific and reuse breakpoints in vertebrate chromosomes. Integration of *Evolution Highway* with the UCSC Genome Browser permits the visualization of annotation features for any chromosome region. New features of chromosome evolution were revealed, including extensively conserved chromosome regions in vertebrate chromosomes (e.g. 12 Mbp HSA12 region conserved in mammals and chicken) and localization of 22 “reuse” breakpoints in the human, mouse and dog genomes at a resolution of <1 Mbp. The analysis of gene content within and around evolutionary breakpoints suggests an enrichment for genes having adaptive functions. Determining the sequence features and gene content of evolutionary breakpoint regions in multiple species may lead to a greater understanding of the role of chromosome rearrangements in adaptive responses and speciation.

## GENETIC CODE: SIGNATURES OF ITS PRIMORDIAL COMPLEMENTARY SYMMETRY IN TRNAS AND COGNATE SYNTHETASES

Sergei N. Rodin<sup>1</sup> & Andrei S. Rodin<sup>2</sup>

*1 Theoretical Biology, Beckman Research Institute, City of Hope, Duarte, CA, USA.*

*2 Human Genetics Center, SPH, University of Texas, Houston, TX, USA*

Translation of genetic messages from mRNAs to proteins is based on the genetic code, which assigns nucleotide triplets (codons) to amino acids (aa). In reality, the code operates via its precise complementary intermediaries, the anticodons located in the tRNA molecules. The latter, in turn, are brought into action by the aminoacyl-tRNA synthetases (aaRSs), which charge tRNAs with the anticodon-specific aa. The proverbial chicken-or-egg dilemma dictates for tRNAs to be originally aminoacylated by ribozymes, r-aaRSs. The isofunctional proteins, p-aaRSs, have emerged later and (strikingly) in two distinct but completely dissimilar versions. These seemingly unrelated p-aaRSs recognize tRNAs in a complementary mirror manner, - from the minor or major groove sides of the acceptor stem. For more than fifteen years, this partition of p-aaRSs remains one of the most daunting puzzles in molecular biology. Moreover, the two p-aaRS types are distributed among codons in a way that suggests their direct involvement in the genetic code shaping. In fact, one faces here the chicken-or-egg conundrum in the most radical fashion.

Our approach to the problem takes into account the possible strand symmetry of the RNA world in which the complementary replicas of many genes could have been both coding for first proteins (Rodin and Ohno 1995; Rodin et al. 1996). Accordingly, we rearranged the genetic code table in a manner that puts complementary codons vis-à-vis each other and revealed the surprising (previously obscure) mirror code's symmetry just with respect to the two (minor vs. major groove) modes of tRNA recognition (Rodin & Rodin 2006). Specifically, the pairs of complementary anticodons from the same recognition group tend to contain RR and YY dinucleotides at 1st and 2nd vs. 3rd and 2nd positions. In pairs of anticodons from different recognition groups, these positions are occupied by YR and RY, which include CG, GC, UA and AU palindromes indistinguishable in complementary anticodons. This may cause confusion of tRNAs (obviously, there is no such problem for RR- and YY-containing complementary anticodons.) Recognition of tRNAs can avert the confusion via "spreading" from the anticodons in the opposite directions thus giving two (also complementary) r-AARSs. If one continues by postulating that the ancestral genes of two pAARSs were physically linked with their ribozymic precursors, then the chicken-or-egg conundrum is in effect resolved. Moreover, this solution predicts the origin of two pAARSs from the complementary strands. Our previous and recent analyses confirm this prediction (Rodin & Ohno 1995; Rodin & Rodin 2006; see also Carter & Duax 2002; Pham et al. 2007).

Mirror symmetry revealed for the two modes of tRNA recognition and aminoacylation by the code's complementary transformation is consistent with the "frozen stereochemical accident" hypothesis (Yarus, 1998). A closer follow-up test of the corresponding complementary anticodons with adjacent invariant U and R at the 5' and 3' sides unveils some even more surprising aspects (Rodin & Rodin 2007). They suggest that the two p-aaRS classes "simply" inherited their functional and structural complementarities from the direct respective ribozymic precursors. In fact, this striking instance of RNA – protein molecular mimicry provides a novel insight into the mystery of the RNA → RNP transition, is consistent with the fingerprints of codon/anticodon-like triplets in the acceptor stem (Moller & Janssen 1990; Rodin et al. 1996) and might represent the missing link between the classic genetic code embodied in anticodons,

and the “second” so-called operational code of aminoacylation embodied mostly in the acceptor stem of tRNAs (Schimmel et al. 1993; Schimmel & Beebe 2006).

#### References

Carter CW, Jr. & Duax WL (2002) Did tRNA synthetase classes arise on opposite strands of the same gene? *Mol. Cell* 10, 705-708.

De Duve, C. (1988). The second genetic code. *Nature* 333, 117-118.

Moller W & Janssen JMC (1990) Transfer RNAs for primordial amino acids contain remnants of a primitive code at position 3 to 5. *Biochimie* 72, 361-368.

Pham Y, Li L, Kim A, Erdogan O, et al. (2007) A minimal TrpRS catalytic domain supports sense/ antisense ancestry of class I and II aminoacyl-tRNA synthetases. *Mol.Cell* – in press.

Rodin S & Ohno S (1995) Two types of aminoacyl-tRNA synthetases could be originally encoded by complementary strands of the same nucleic acid. *Origins Life Evol. Biosphere* 25, 565-589.

Rodin S, Rodin A & Ohno S (1996) The presence of codon-anticodon pairs in the acceptor stem of tRNAs. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 4537-3542.

Rodin S & Ohno S (1997) Four primordial modes of tRNA-synthetase recognition determined by the (G,C) operational code. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 5183-5188.

Rodin SN & Rodin AS (2006) Partitioning of aminoacyl-tRNA synthetases in two classes could have been encoded in a strand-symmetric RNA world. *DNA Cell Biol.* 25, 617-626.

Schimmel P, Giege R, Moras D & Yokoyama S (1993) An operational RNA code for aminoacids and possible relation to genetic code. *Proc. Natl., Acad. Sci. USA* 90, 8763-8768.

Schimmel P & Beebe K (2006) Aminoacyl tRNA synthetases: from the RNA world to the theater of proteins. In *The RNA World* (R. Gesteland, T Cech, J Atkins, eds.) Cold Spring Harbor Laboratory Press, pp. 227-255.

Yarus, M. (1998). Amino acids as RNA ligands: a direct-RNA-template theory for the code's origin. *J Mol Evol.* 47, 109-117.

## GENOMIC AND PROTEOMIC APPROACHES TO STUDIES OF PROTEOLYTIC ENZYMES: WHAT MOLECULAR BIOLOGY CAN TELL US ABOUT EVOLUTION

Anthony J. Turner<sup>1</sup> & Natalia N Nalivaeva<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Molecular and Cellular Biology, University of Leeds, Leeds LS2 9JT, U.K.*

<sup>2</sup>*I.M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, RAS, Saint-Petersburg, Russia*

Proteases and peptidases play pivotal roles in cell regulation from fertilization to cell death. With the sequencing of ever more genomes, a rational approach to understanding the evolution and functions of proteases has begun. Comparison of peptidase/protease gene families in the *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans* and *Homo sapiens* genomes emphasizes key differences in peptidase distribution with relevance to the evolution of both form and function in living organisms and can be useful in identifying new peptidases which might be of important therapeutic value. In particular, two metallopeptidase gene families the neprilysin (NEP) family and the angiotensin converting enzyme (ACE) family have a very intriguing and diverse evolution. The mammalian NEP family now comprises at least eight members of which the best characterized are NEP itself and endothelin-converting enzyme (ECE). They usually exist as ectoenzymes and have roles in the processing or metabolism of regulatory peptides, which include enkephalins, tachykinins, endothelins, natriuretic and chemotactic peptides. The evolution, comparative physiology and molecular biology of these enzymes will be described, as well as their potential as therapeutic targets. For several of the family members, a well defined physiological function or substrate is lacking. Examination of the *C. elegans* and *Drosophila melanogaster* genomes has revealed even greater complexity in this peptidase family. Thus, the *C. elegans* genome has 22 NEP-like genes and *Drosophila* appears to have as many as 24 family members, which suggests other mammalian counterparts may exist. Comparative functional genomics should provide a valuable approach to understanding the roles of this peptidase family in humans, both in health and disease. In contrast, the peptide processing enzyme, angiotensin converting enzyme (ACE), has to date only one mammalian representative which can exist in two distinct forms (somatic and germinal) through the use of alternative promoters. The somatic form possesses two similar but distinct active sites whereas the germinal (testicular form) only has one site. ACE-like enzymes also exist in other non-mammalian species. In particular, *Drosophila* expresses two ACE-like proteins (Ance and Acer) but *C. elegans* has only one ACE-like gene, which is predicted to be inactive. Through a genomics-based approach, a novel human homologue of ACE (ACE2) has been identified, which contains a single active site. It is expressed most highly in testis, heart and kidney. Its processing specificity differs markedly from ACE itself and is insensitive to classical ACE inhibitors such as captopril. It may play a role in angiotensin and bradykinin metabolism and appears to be up-regulated in heart failure. In the process of adaptation, ACE2 has been subverted by SARS coronavirus as its receptor, facilitating viral infectivity. In conclusion, genomics-based approaches can identify novel peptide and protein processing enzymes and potential therapeutic targets, and lead to a better understanding of evolution and physiology of particular gene families as evolutionary theory is questioned and modified. This work was supported by UK Medical Research Council and the Royal Society.



## THE EVOLUTIONARY CONSERVATISM AND CONTINUITY OF PRINCIPLES OF RELATIONSHIP WITH THE ENVIRONMENT IN THE LIVING SYSTEMS

Zapara T.A., Ratushnyak A.S., Simonova O.G.

*Design Technological Institute of Digital Techniques of SB RAS, E-mail: [ratush@mail.ru](mailto:ratush@mail.ru)  
Institutckaya street, 6, 630090, Novosibirsk, Russia*

The interest to the stressor provoking the adaptive reactions is stimulated by the significance of this phenomenon for some clinical situations. For example, after natural, industrial and military catastrophes strong, paradoxical reactions on the innocuous influences arise. Noxious or intense stimuli provoke not only a clear specific responses but the “universal cell reaction” as well. The universal cell reaction is a coordinated biphasic response consisting of two components a prominent facilitatory component and a less obvious inhibitory component.

By molecular representations of the facilitatory component are the increase of second messenger level, depression of specific sets of potassium channels regulated by the activity of different kinases and phosphatase). The inhibitory components are mediated by other second messenger system, the lipoxigenase metabolites of arachidonic acid.

The experience-dependent specific and biphasic responses of cells arise from noxious or intense influences easily recorded. However, weak secondary and difficult for record influences can interfere in the course of events and manifestation biphasic response.

The used laboratory model (isolated mollusk neurons), methods of recording responses on stimuli and the scheme of carrying out the experiments give the unambiguous results that confirm our assumptions.

In the first group of neurons, reactions of cells to application of physiological concentrations (millimole) of drugs (lidocaine, caffeine) were recorded in a normal saline solution. The responses were expressed in a reversible change of the neuron membrane potential (MP). The second group of cells was incubated with low concentration (fentomole) of drugs for 40 minutes. This treatment did not cause changes in responses to application of lidocaine or caffeine in comparison with the control group.

The third group of cells was placed into the hypoxic saline solution for 40 minutes. *Lymnaea stagnalis* can survive in environment with decreased oxygen content. However, after such biologically significant influence (incubation in a hypoxic solution) the reaction of neurons to application of drugs was significantly enhanced. Millimole concentrations of drugs elicited facilitatory component of biphasic response induced with noxious stimuli.

The forth group of cells was placed into the hypoxic saline solution containing low concentration of drugs for 40 minutes. As a result of combined influence of hypoxia and low concentration of drugs the neurons' responses to application of drugs were not enhanced like in the case of incubation in the hypoxic solution alone and do not differ significantly from the cells response of the control group. In these conditions, the same concentrations of drugs elicited inhibitory component of biphasic response.

The carried out experiments show that hypoxic stress augments the neuron reactions on the drugs. However, combined influences of ineffective under normal conditions of concentrations of substances with hypoxic stress block the manifestation facilitatory component. The data obtained on isolated neurons of a rather primitive animal demonstrate the conservatism and continuity of principles relationship the living systems with the environment - establishment of associations between stressful events and situational parallel influences (more precisely: the relationships between intracellular processes activated by the influences). The repeated influences of drugs in traditional concentrations provoking definite responses are virtually tests for establishment of associations. The cell acquires an ability to trigger some adaptive reactions

with the help of the drugs if associations have been formed. Evidently, the consequences of associative learning will not always be positive. It is especially noteworthy, very weak influences to which the cells do not react under normal conditions may become alarm stimuli. Probably low levels of ecological or pharmacological influences under stressful conditions can result in formation of incorrect associations and evoke clinically negative reactions such as multiple chemical hypersensitivity, drug tolerance, or food intolerance. The data on the formation of signals associations under stressful conditions obtained by us on a simple object offer new strategies for studying the mechanisms of action of low concentration and substantiate the use of cognitive behavioral methods for prevention and correction of incorrect conditioned associations.

Funded by RFBR (grant number 04-04-48505a) and by an internal grant of the SB RAS (grant number 5, 54).