

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ *Dras1* НА ПОЛИТЕННЫХ ХРОМОСОМАХ У ВИДОВ *DROSOPHILA* ГРУППЫ *VIRILIS*

© В. Г. Митрофанов,¹ А. И. Чекунова,¹ Е. С. Зеленцова,²
Л. Н. Гаузе,¹ Г. Н. Бахтояров¹

¹ Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН

и ² Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва;

¹ электронный адрес: vgmitro1936@mail.ru

Методом гибридизации *in situ* проведена локализация гена *Dras1* на политеческих хромосомах ряда видов-двойников группы *Drosophila virilis* и гибридов между ними. В качестве зонда использовали фрагмент гена *Dras1* *D. virilis* размером 1037 пар нуклеотидов. Последовательность гена локализована в районе диска 25 А-В хромосомы 2 (по карте политеческих хромосом *D. virilis* (Gubenko, Evgen'ev, 1984)).

Ключевые слова: группа *Drosophila virilis*, ген *Dras1*, локализация.

Ras-белки являются членами высококонсервативного семейства ГТФаз, которые функционируют в путях сигнальной трансдукции и участвуют в основных процессах развития (Shilo, Weinberg, 1991). Ген *ras1* необходим для развития в качестве универсального клеточного переключателя и участника сигнальной трансдукции. Этот ген, первоначально идентифицированный как онкоген, играет важную роль в процессах клеточной пролиферации и дифференцировки как консервативный элемент в сигнальных путях, идущих от рецепторных тирозинкиназ (RTK) (Moodie, Wolfman, 1994). У видов группы *Drosophila melanogaster* все гены семейства *ras* имеют низкий уровень полиморфизма, при этом *Dras1* имеет наименьший уровень внутривидовой изменчивости (Gasperini, Gibson, 1999). В отличие от *melanogaster* в группе *virilis* выявлена значительная изменчивость, которая является характерной для каждого вида (Чекунова и др., 2008).

Согласно гипотезе Добжанского, инверсии могут служить накопителями видоспецифичной изменчивости при видеообразовании (Dobzhansky, 1951). И группа *D. virilis* полностью отвечает этому положению, поскольку в формировании всех 12 видов группы участвует около 150 инверсий (Patterson, Stone, 1952). В связи с этим мы предприняли попытку определить, связана ли локализация гена *Dras1* с какими-либо видоспецифичными инверсиями, участвующими в видеообразовании в группе *D. virilis*.

Материал и методика

Согласно цитологическим критериям (Patterson, Stone, 1952) группа *D. virilis* делится на две филады: *virilis* (*D. virilis*, *D. lummei*, *D. novamexicana*, *D. americana americana* и *D. a. texana*) и *montana* (*D. littoralis*, *D. montana*,

D. lacicola, *D. flavomontana*, *D. ezoana* и *D. kanekoi*). В экспериментах использовали следующие виды группы *D. virilis*: *D. virilis*, *D. lummei*, *D. novamexicana*, *D. littoralis*, *D. lacicola* и *D. montana* и гибриды между ними. Использование межвидовых гибридов ограничено в связи с нескрещиваемостью между некоторыми видами группы. ДНК экстрагировали из гомогената живых мух по описанной методике (Gloor, Engels, 1992). Для получения амплифицированной последовательности интересующего нас зонда ДНК, (экзоны 1—3 и интроны 2—3 гена *Dras1*) использован набор для ПЦР «Амплификация ДНК» фирмы НПАО «СИЛЕКС М» и праймеры TTGCGTACAAC-TACTTGCAG (прямой) и CGTTTTACGTCCCTTTCGTCC (обратный). Биотинилирование ДНК-зондов проводили ник-трансляцией с использованием «Gibco-BRL biotin nick-translation system» согласно инструкциям фирмы-производителя. Гибридизацию ДНК *in situ* осуществляли по методу Лима (Lim, 1993). Для определения локализации *Dras1* относительно инверсий использованы межвидовые гибриды. Определение цитологических сайтов локализации *Dras1* проводили согласно фотографическим картам политеческих хромосом *D. virilis* (Gubenko, Evgen'ev, 1984).

Результаты и обсуждение

У *D. virilis* последовательность *Dras1* расположена в хромосоме 2 в районе диска 25 А-В (рис. 1, *a*). У межвидовых гибридов *virilis*—*lummei* (рис. 1, *e*) и *virilis*—*novamexicana* (рис. 1, *z*) ген *Dras1* расположен в хромосоме 2 в пределах видоспецифичной парацентрической инверсии 2A (Patterson, Stone, 1952). Эта инверсия является самой древней по происхождению и характерна для всей группы, кроме *D. virilis* (Hsu, 1952). На препаратах хорошо видна конъюгация между гомологичными по *Dras1* уча-

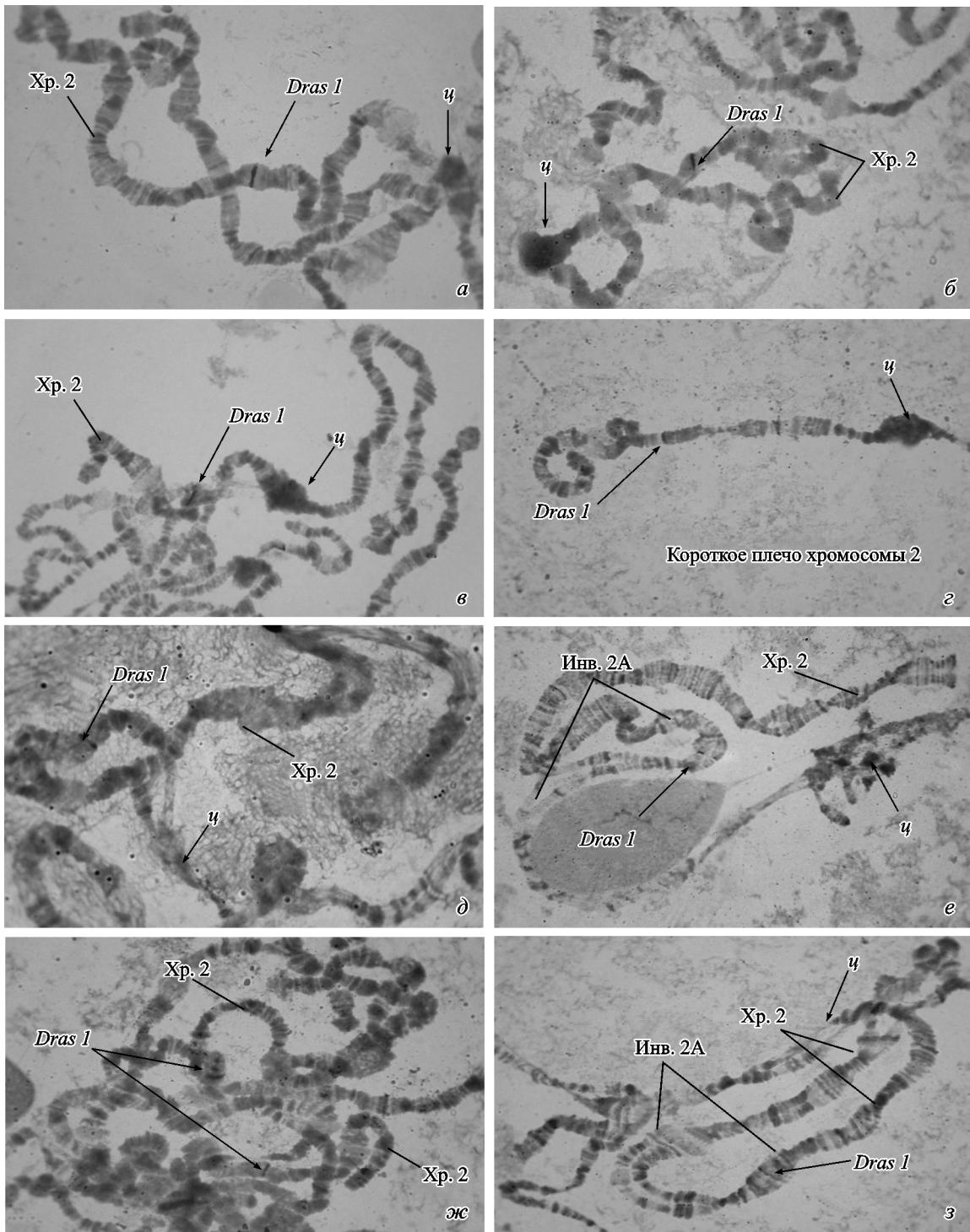


Рис. 1. Сайты гибридизации последовательности *Dras1* на хромосоме 2 у дрозофилы группы *virilis* *Drosophila* (а), *D. littoralis* (б), *D. montana* (в) и межвидовых гибридов *virilis*—*lacicola* (короткое плечо), 2 — *virilis*—*litoralis* (д), *virilis*—*lummei* (е), *virilis*—*lacicola* (ж), *virilis*—*novamexicana* (з).

у — хромоцентр.

стками хромосомы 2, что свидетельствует об отсутствии микроинверсий (которые можно обнаружить цитологически), захватывающих локус *Dras1*. У *D. montana* (рис. 1, в) в результате перицентрической инверсии DE, характерной для всей филады *montana* (рис. 2), локус *Dras1* передвинулся в короткое плечо хромосомы 2. Это хорошо видно на препаратах *D. littoralis* (рис. 1, б),

D. montana (рис. 1, в) и *D. lacicola* (рис. 1, ж). У гибридов *virilis*—*littoralis* (рис. 1, д) еще видна некоторая коньюгация гомологов, в том числе и тех участков хромосомы 2, где локализован *Dras1*, тогда как у гибрида *virilis*—*lacicola* (рис. 1, ж) из-за многочисленных инверсий (рис. 2) коньюгация гомологов полностью отсутствует.

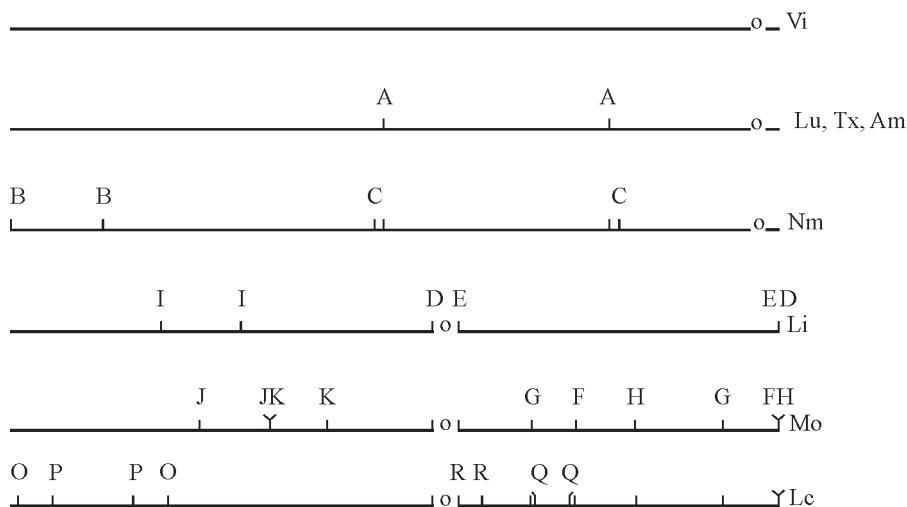


Рис. 2. Схема расположения инверсий хромосомы 2.

По: Patterson, Stone, 1950, с изменениями и дополнениями. Vi — *Drosophila virilis*, Lu — *D. lummei*, Tx — *D. americana texana*, Am — *D. americana*, Nm — *D. novamexicana*, Li — *D. littoralis*, Mo — *D. montana*, Lc — *D. lacicola*. Инверсии обозначены штирихами. О — центромера.

Можно предположить, что описанные перемещения не являются случайными, а имеют функциональное значение. Не исключено, что это связано с ролью гена *Dras1* в развитии: хотя вполне возможно, что при видообразовании специфичная функция гена не меняется, однако изменение его локализации на хромосоме может оказаться на его активности (эффект положения, генетическая трансвекция и т. д.). Полученные данные вполне согласуются с предположением Добжанского о накоплении видоспецифичных изменений в пределах инверсий (Dobzhansky, 1951). Наши данные показывают, что молекулярная изменчивость коррелирует с инверсионной по крайней мере на уровне филад. Учитывая роль гена *Dras1* в развитии, можно предположить, что он вполне может быть кандидатом на роль гена,участвующего в изоляции между видами. В числовых моделях показано, что при определенных условиях инверсии могут способствовать поддержанию видовых различий, а сильное давление отбора способствует дивергенции по видоспецифичным генам способом, аналогичным поддержанию инверсионных различий (Feder, Nosil, 2009). В нашем случае слабую степень полиморфизма по *Dras1* в группе *melanogaster* можно объяснить тем, что природные популяции видов этой группы расположены в тропиках и субтропиках, тогда как виды-двойники группы *virilis* обитают от тропиков (*D. virilis*) до Полярного круга (*D. montana*).

Работа выполнена при финансовой поддержке программы президиума РАН «Динамика генофондов» и Российского фонда фундаментальных исследований (проект 08-04-00958).

Список литературы

- Чекунова А. И., Куликов А. М., Михайловский С. С., Лазебный О. Е., Лазебная И. В., Митрофанов В. Г. 2008. Родственные отношения дрозофил группы *virilis*, реконструированные на основе последовательностей гена *Dras1*. Генетика. 44 (3) : 336—345.
 Dobzhansky T. 1951. Genetics and the origin of species. New York; London: Columbia Univ. Press. 364 P.
 Feder J. L., Nosil P. 2009. Chromosomal inversions and species differences: when are genes affecting adaptive difference and reproductive isolation expected to reside within inversions? Evolution. 63 : 3061—3075.
 Gasperini R., Gibson G. 1999. Absence of protein polymorphism in the *Ras* gene of *Drosophila melanogaster*. J. Mol. Evol. 49 : 583—590.
 Gloor G., Engels W. 1992. Single-fly DNA preps for PCR. Drosophila Inform. Serv. 71 : 148—149.
 Gubenko I. S., Evgen'ev M. B. 1984. Cytological and linkage maps of *Drosophila virilis* chromosomes. Genetica. 65 : 127—139.
 Hsu T. S. 1952. Chromosomal variation and evolution in the *virilis* group of *Drosophila*. Univ. Tex. Publs. 5204 : 35—72.
 Lim J. K. 1993. In situ hybridization with biotinylated DNA. Drosophila Inform. Serv. 72 : 73—77.
 Moodie S. A., Wolfman A. 1994. The 3Rs of life: Ras, Raf and growth. Regulation Trends Genet. 10 : 44—48.
 Patterson J. T., Stone J. S. 1952. Evolution in the genus *Drosophila*. New York; Macmillan Co. 610 p.
 Shilo B., Weinberg R. 1991. DNA sequences homologous to vertebrate oncogenes are conserved in *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 78 : 6789—6792.

Поступила 28 VI 2010

LOCALIZATION OF THE *DRASI* SEQUENCE TO POLYTENE CHROMOSOMES
IN SIBLING SPECIES OF THE *DROSOPHILA VIRILIS* GROUP

V. G. Mitrofanov,¹ A. I. Chekunova,¹ E. S. Zelentsova,² L. N. Gause,¹ G. N. Bakhtyarov¹

¹ N. K. Kol'tsov Institute of Developmental Biology RAS

and ² V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology RAS;

¹ e-mail: vgmmitro1936@mail.ru

Dras1 gene was mapped by *in situ* hybridization to polytene chromosomes of several sibling species of the *Drosophila virilis* group and hybrids between them. A 1037 bp fragment of the *Dras1* gene of the *D. virilis* genome was used as a probe. The gene sequence is localized to the region of the disk 25 A-B on the chromosome 2 of the polytene chromosome map of *D. virilis*.