

icosahedral deoxyribovirus from the catfish *Ictalurus melas*. Diseases of Aquatic Organisms. – 1992. – 14. – P. 35–42. 8. Plumb J., Zilberg D. The lethal dose of largemouth bass virus in juvenile largemouth bass and the comparative susceptibility of striped bass. J. Aquat Anim Health. – 1999. – 11. – P. 246–252. 9. Mao J., Wang J., Chinchar G., et al. Molecular characterization of a ranavirus isolated from largemouth bass *Micropterus salmoides*. Dis. Aquat. Org. – 1999. – 37. – P. 107–114. 10. Hedrick R., McDowell T. Properties of Iridoviruses from ornamental fish. Veterinary research, 1995. – 26. – P. 423–427. 11. Chao C., Pang V. An outbreak of an iridovirus-like infection in cultured grouper (*Epinephelus* spp.) in Taiwan. J. Chin Soc Vet Sci. – 1997. – 23. – P. 411–422. 12. Inouye K., Yamano K., Maeno Y., et al. Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. Fish Pathology. – 1992. – 27. – P. 19–27. 13. Anderson I.G., Prior H.C., Rodwell B.J., et al. Iridovirus-like virions in imported dwarf gourami (*Colisa lalia*) with systemic amoebiasis. Australian Veterinary Journal. – 1993. – 70. – P. 66–67. 14. He J.G., Wang S.P., Zeng K., et al. Systemic disease caused by an iridovirus-like agent in cultured mandarin fish, *Siniperca chuatsi* (Basilewsky), in China. Journal of Fish Diseases. – 2000. – 23. – P. 219–222. 15. Chua F., Ng M., Ng K., et al. Investigation of outbreaks of a novel disease, 'Sleepy Grouper Disease', affecting the brown-spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. J. Fish Dis. – 1994. – 17. – P. 417–427. 16. Lancaster M., Williamson M., Schroen C. Iridovirus-associated mortality in farmed Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*). Aust Vet J. – 2003. Vol 81, No 10 October. 17. Go J., Lancaster M., Deede K. et al. The molecular epidemiology of iridovirus in Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) and dwarf gourami (*Colisa lalia*) from distant biogeographical regions suggests a link between trade in ornamental fish and emerging iridoviral

diseases. Mol Cell Probes. – 2006. – Jun-Aug, 20(3-4). – P. 212–22. 18. Hedrick, R.P., McDowell, T.S., Ahne, W., et al. Properties of three iridovirus-like agents associated with systemic infections of fish. Diseases of Aquatic Organisms. – 1992. – 13. – P. 203–209. 19. Попкова Т.И., Щелкунов И.С. Выделение вируса от карпов, больных жаберным некрозом. ВНИИПРХ Рыб. хоз. – 1978. – № 4. – С. 34–38. 20. Berry E.S., Shea T.B., Galiks J. Two iridoviruses isolates from *Carassius auratus*. Journal of Fish Diseases. – 1983. – 6. – P. 501–510. 21. Hyatt A., Gould A., Zupanovic Z., et al. Comparative studies of piscine and amphibian iridoviruses. Archives of Virology. – 2000. – 145. – P. 301–31. 22. Jensen B., Ariel E. Experimental studies of *Rana*-virus infection in redfin perch (*Perca fluviatilis*) and pikeperch (*Stizostedion lucioperca*). 13th International Conference of fish and shellfish diseases, 17–21 September 2007 Grado, Italy. Book of abstracts. – P. 94. 23. Mao J., Hedrick R., Chinchar V. Molecular characterization, sequence analysis, and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses. Virology. – 1997. – Mar, 3,229(1). – P. 212–20. 24. Marsh I., Whittington R., O'Rourke B. et al. Rapid differentiation of Australian, European and American ranaviruses based on variation in major capsid protein gene sequence. Mol Cell Probes. – 2002. Apr, 16(2). – P. 137–51. 25. Mao J., Green D., Fellers G. Molecular characterization of iridoviruses isolated from sympatric amphibians and fish. Virus Res. – 1999, Sep, 63(1-2). – P. 45–52. 26. Ahne W., Bearzotti M., Bremont M. Comparison of European systemic piscine and amphibian iridoviruses with epizootic haematopoietic necrosis virus and frog virus 3. Zentralbl Veterinarmed B. – 1998. – Aug, 45(6). – P. 373–83.

Надійшла до редколегії 31.01.08

УДК 595.773.4

I. Козерецька, канд. біол. наук,
В. Костогриз, асп.

ПОШУК ГЕНІВ-КАНДИДАТІВ НОВОЇ МУТАЦІЇ *CURLED-LIKE* У *DROSOPHILA VIRILIS*

Проведено пошук генів-кандидатів, які відповідають за планарність крила у *Drosophila virilis* з використанням геномних послідовностей *Drosophila melanogaster*. Встановлено нуклеотидну послідовність у геномі *Drosophila melanogaster*, яка містить нової ген-ортолог, порушення якого у *Drosophila virilis* призводить до мутантного фенотипу "загорнуті догори крила".

Using the genome sequence of *Drosophila melanogaster* we performed the screening of genes which can be responsible for wing planarity of *Drosophila virilis*. The nucleotide sequence of *Drosophila melanogaster* genome which contains gene-ortholog of *Drosophila virilis* was determined.

Вступ. Інтерес до вивчення мутацій, гени яких відповідають за розвиток крила дрозофіл, пов'язаний з тим, що механізми морфогенезу є еволюційно консервативними, а отже сигнальні системи клітинної диференціації й специфікації, які беруть участь у цих процесах, є спільними для багатьох систематичних груп тварин [1]. На сьогоднішній день крило дрозофіл є класичною експериментальною моделлю для вивчення механізмів закладки й росту органів багатоклітинних організмів [2].

Загалом сьогодні відомо 373 окремих гена, які беруть участь у формуванні жилок крила *Drosophila melanogaster*. Більшість цих генів (більше 60%) є компонентами відомого сигнальних шляхів [3]. Однак, дуже мало відомо про них й сигнальних шляхи, які впливають на планарність крила дрозофіл.

Метою цієї роботи був пошук відповідної нуклеотидної послідовності нової мутації *curl-like* (*curl*: 2-6.0) у *Drosophila virilis*.

Матеріали та методи досліджень. Робота з пошуку генів кандидатів у *D. melanogaster*, порушення яких могли б призводити до появи мутації подібних *curl D. virilis* проводилися з використанням геномних послідовностей *D. melanogaster*, оскільки процес розшифровки геному *D. virilis* ще не закінчений, і відповідних геномних послідовностей цього модельного об'єкту ще немає у вільному доступі [4].

Результати та їх обговорення. Ген *curl D. virilis* розташований у проксимальній частині 2-ї хромосоми на відстані 39 сМ від гена *Delta*. Мутація характеризується нормальною життєздатністю, є рецесивною. Мутантний фенотип характеризується закрученими догори та розставленими під кутом 30° крилами. Ступінь закрученості

крил імаго мутантної лінії варіює від майже рівного крила з невеликим підняттям його дистальної частини догори до дуже сильного, при якому дистальний край крила торкається крилової пластинки ближче до місця її прикріплення до тораксу [5, 6].

Ще однією фенотиповою особливістю мутантного крилового фенотипу є наявність складок, які можна спостерігати в мутантних особин, як під стереоскопічним мікроскопом, так і на постійних препаратах крил. Мутантні особини характеризуються порушенням орієнтації постскутелярних щетинок, які на відміну від дикого типу часто перехрещені, або ж спрямовані в різні сторони. Для тораксу мутантних особин характерною є певна пігментційна варіація, яка проявляється у вигляді чергування світло-коричневих поздовжніх смуг [7].

На основі порівнянь мутантних фенотипів вдалося встановити щонайменше дев'ять генів *D. melanogaster*, порушення яких призводить до прояву фенотипу "закручені догори крила", а саме *curled* (*cu*: 3-50), *Curled blistered* (*Cb*:1-13), *Curled 3* (*Cu*: 3-66.0), *curvi* (*cui*: 2-23.4), *curl* (*curl*: 2-60), *Curl* (*Cu*: 2-54.6), *curled on X* (*cu*: X-1-?), *Curly* (*Cy*: 2-6.1), та *Upturned* (*U*: 2-70).

Наведемо детальну характеристику вищезгаданих генів:

Ген *cu* є домінуючим, для нього описано 7 рецесивних алелів (*cu*¹, *cu*^{100.69}, *cu*^{100.384}, *cu*^{300.215}, *cu*^{5J}, *cu*^{FW}, *cu*²). Мутантні особини характеризуються закрученими у проксимально-дистальному напрямку крилами. Мутантним фенотипу притаманні перехрещені постскутелярні щетинки, а також наявність темного пігменту тораксу. Молекулярна функція гену – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *Cb* рецесивний, має один алель *Cb*¹ (мутанти особи характеризуються закрученими догори крилами, в присутності *px^{unspecified}* в гомозиготі крила стають пухирчастими), фенотипово проявляється у вигляді закручених догори крил на фоні порушень адгезії поверхні крила. Пігмент тораксу – дикого типу. Порушення у розвитку щетинок не спостерігається. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *Su-3* рецесивний, має один алель (*Su-3*¹), мутація летальна в гомозиготному стані, спричиняє розвиток закручених догори у формі пергаменту крил. Пігмент тораксу – не визначений. Постскутеллярні щетинки – дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *cu1* домінуючий, має один алель (*cu1*¹), характеризується наявністю загнutoї догори тільки дистальної половини пластинки крила. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *curl* домінуючий, має один алель (*curl*¹), фенотипово характеризується наявністю закручених догори крил. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *cu-X* домінуючий, має один алель (*cu-X*¹), характеризується наявністю закручених догори крил. Фенотип однаково добре виражений у самців з або без Y-хромосоми. Фенотип ніколи не проявляється в гомозиготних самках. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Алель дикого типу гена *U* рецесивний, має три алелі (*U*¹, *U*²⁰, *U*²). Фенотип характеризується закрученими догори крилами як у *Su*¹, але крила темні й воскові. Мутація летальна в рецесивному стані, характеризується наявністю дефектного пігменту очей. Постскутеллярні щетинки – схрещені. Пігмент торакса є темнішим в порівнянні з диким типом. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *Su* рецесивний, має двадцять шість алелів (*Su*^{66.14}, *Su*^{66.5}, *Su*^{67.3}, *Su*¹², *Su*¹³, *Su*^M, *Su*^{D21}, *Su*^{D25}, *Su*^{T16}, *Su*^{T18}, *Su*^{T25}, *Su*^{T31}, *Su*^{T32}, *Su*^{T37}, *Su*^{T38}, *Su*^{T43}, *Su*^{T51}, *Su*^{T61}, *Su*^{T62}, *Su*^{drv1}, *Su*^{unspecified}, *Su*^{Rev76}, *Su*^{rv11}, *Su*^{rv27}, *Su*^{rv67}). Фенотип характеризується наявністю закручених догори крил подібно до *cu*, але з властивим викривленням. Мутації летальні в гомозиготному стані, але іноді можуть проявлятися у вигляді карликовості із значними видозмінами крила, що є формальною особливістю розходження відносно *cu*. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена.

Ген *Su* рецесивний, має сім алелів (*Su*¹, *Su*², *Su*³, *Su*⁵⁴, *Su*⁵⁷, *Su*⁷⁵, *Su*^A). Фенотип подібний до *Su*, але відрізняється більш викривленими крилами, які є непрозорими й сірватими. Пігмент тораксу та постскутеллярні щетинки дикого типу. Молекулярна функція гена – невідома, геномна послідовність – не встановлена. [4]

Отже, мутація *curl D. virilis* відносно наведених вище характеристик генів *D. melanogaster*, фенотипово відповідає тільки гену *cu*.

Крім того, ще одним фактом на користь нашого висновку є виконаний Whiting J.H. et al. аналіз із використанням гібридизації *in situ*, який показав, що ділянка 85DE-97EF третьої хромосоми *D. melanogaster*, в якій розташований ген *cu* є гомологічною до проксимальної ділянки другої хромосоми *D. virilis* [8], в якій за результатами рекомбінаційного тесту і знаходиться ген *curled-like* [].

Отже, це дає нам підстави зробити гіпотетичне припущення про те, що дані гени є ортологами.

Границі ділянки 85DE-97EF 3 хромосоми *D. melanogaster*, в якій розташована крилова мутація *cu*, були визначені за даними FlyBase [4]. Нуклеотидна послідовність визначеної хромосомної ділянки була отримана з геномної бази даних DroSpeGe [9], в якій вказано, що послідовність містить 6 генів-кандидатів: 1) CG6629 (FBgn0037860), характерною є сукцинатдегідрогеназна активність (синтез сукцинату), впливає на процеси мітохондріального електронно-транспортного ланцюга, контролює метаболізм сукцинату, бере участь у циклі трикарбонових кислот, кінцевими продуктами метаболізму є: сукцинат-дегідрогеназний комплекс, С-мембранний білок; 2) CG33698 (FBgn0053698), молекулярна функція є невідомою, біологічний процес – невідомий, кінцевий продукт – поліпептид; 3) CG4706 (FBgn0037862), характерною є аконітат-гідратазна активність, здійснює біосинтез амінокислот, бере участь у циклі трикарбонових кислот, синтезі аконітатгідратази (аконітази), кутикули, відіграє роль в апоптозі [10]; 4) *Ugt86Dc* (FBgn0040257), 5) *Ugt86Dd* (FBgn0040256), 6) *Ugt86Di* (FBgn0040251) – для них характерною є глюкуронозилтрансферазна активність. Продукти стимулюють захисні реакції, приймають участь в метаболізмі полісахаридів та у виведенні токсинів з клітин, здійснюють вплив на метаболізм стероїдних сполук, синтезують UDP-глюкуронозилтрансферазу.

В літературі, ми не знайшли жодної інформації, яка б дозволила зробити висновок про роль цих генів в морфогенезі крила [4].

Отже ці 6 CG-генів можна гіпотетично розділити на 4 групи, відповідно до ймовірності преналежності саме досліджуваному локусу. До першої групи можна віднести ген CG4706 (FBgn0037862), тому що приймаючи участь в синтезі аконітази, відповідно, може впливати на апоптоз клітин міжжилкового простору, який відбувається в *Drosophila* в перші години вилуплення імаго; до другої – CG6629 (FBgn0037860), тому, що він здійснює вплив на синтез трансмембранних білків, а отже може впливати на адгезію поверхонь крила *Drosophila*; до третьої – гени *Ugt86Dc* (FBgn0040257), *Ugt86Dd* (FBgn0040256), *Ugt86Di* (FBgn0040251), тому, що вони приймають участь у синтезі полісахаридів із стероїдних сполук, які є компонентами кутикулярних структур у *Drosophila*, відповідно до четвертої – ген *Ugt86Di* (FBgn0040251), оскільки невідомість його функції не дозволяє виключити його роль в процесах морфогенезу крила.

Висновки. Отже, в результаті пошуку генів-кандидатів мутації *curl-like (curl: 2-6.0) D. virilis*, було встановлено нуклеотидну послідовність в геномі *D. melanogaster*, що містить відповідний ген-ортолог. Визначення нуклеотидних послідовностей конкретного гену-кандидату, потребує подальших досліджень.

1. Garsia-Bellido A. and de Celis J.F. Developmental genetics of the venation pattern of *Drosophila* // Annu. Rev. Genet. – 1992. – Vol. 26. – P. 275–302.
2. Albagli O, Pelczar H. Myc and cell competition in *Drosophila*. // Med Sci – 2006. – Vol. 22, №8-9. – P. 695.
3. Monlar C. et al. A Gain-of-Function Screen Identifying Genes Required for Vein Formation in the *Drosophila melanogaster* Wing // Genetics. – 2006. – Vol. 174. – P. 1635–1659.
4. <http://flybase.bio.indiana.edu/>.
5. Серєда С.В., Козерецька І.А. Нова curled-like мутація *Drosophila virilis* // Вісн. Київ. ун-ту. Біологія – 2007. – прийнято до друку.
6. Серєда С., Козерецька І. Нова curled-like мутація *Drosophila virilis* // Шевченківська весна. Матер. міжнародн. наук. конф., Київ, 2007. – К., 2007.
7. Костоєрич В.П., Аналіз мутантов *curl Drosophila virilis* с асимметричным распределением складок кутикулы на дорзальной поверхности пластинки крыла. // – 2007. – прийнято до друку.
8. Whiting J.H., J., Pliley M.D., Farmer J.L., Jeffery D.E. In Situ Hybridization Analysis of Chromosomal Homologies in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila virilis* // Genetics. – 1989. – Vol. 122. – P. 99–109.
9. <http://insects.eugenes.org/DroSpeGe/>.
10. Vernooij, S. Y., et al. (2000). Cell death regulation in *Drosophila*: conservation of mechanism and unique insights. J. Cell Bio. 150: F69–76.