

НОВА CURLED-LIKE МУТАЦІЯ DROSOPHILA VIRILIS

Отримано нову мутацію *D. virilis*, яка призводить до появи фенотипу "закручені догори крила". Досліджено тип успадкування, визначено локалізацію, описано фенотип, генетичні взаємодії. Проведено порівняння отриманої мутації з раніше описаними мутаціями *D. melanogaster*, що викликають розвиток подібного фенотипу.

A new wing mutation was observed in progeny of dysgenic crosses of *D. virilis*. Type of inheritance and localization were established. Phenotype and genetic interactions were described. Newly observed mutation was compared with *D. melanogaster* mutations, which results in curled-like wing phenotype.

Вступ. Інтерес до вивчення мутацій, що порушують процеси розвитку крила, пов'язаний з тим, що механізми морфогенезу цього органу дуже консервативні, а сигнальні системи клітинної диференціації та специфікації, які беруть участь у цих процесах, описані для багатьох систематичних груп. Тому крило дрозофілі є класичною експериментальною моделлю для вивчення механізмів закладки та росту органів [1].

За останні роки було описано велику кількість генів, представників декількох різних сигнальних шляхів, які обумовлюють специфічний характер експресії генів в процесі розвитку крила [2]. Також були описані загальні принципи морфогенезу крила *Drosophila*, які демонструють індивідуальність генетичних програм розвитку жилок крила та міжжилкового простору. В той же час мало що відомо про гени, які впливають на планарність крила, та про їх роль у процесах онтогенезу [3, 4].

Історично склалося так, що найбільш вивченим представником дрозофілід є *D. melanogaster*, яка в той

же час є одним з еволюційно наймолодших видів цього роду. В останні роки спостерігається інтерес до дослідження геномів різних представників роду *Drosophila*, і чи не найчастіше в такі дослідження залучається один з еволюційно найстаріших видів цього роду *D. virilis*.

Метою цієї роботи було охарактеризувати нову крилову мутацію *D. virilis* та порівняти її з вже описаними подібними мутаціями у *D. melanogaster*. Мутація отримала назву *curled-like* (*curl*), оскільки як демонструють наші дослідження вона подібна мутації *curled* *D. melanogaster*. Вжити відповідний символ для *D. virilis* заважає той факт, що у цього виду вже існує інший ген з таким позначенням [5].

Об'єкт та методи досліджень. В роботі використовували колекцію мутантів *D. virilis* кафедри загальної та молекулярної генетики біологічного факультету КНУ імені Тараса Шевченка. Детальна характеристика використаних ліній наведена в табл. 1.

Таблиця 1. Список використаних ліній *D. virilis*

Лінія	Мутації			Фенотип
	Символ	Назва	Локалізація	
9	<i>wt</i>	<i>wild type</i>	-	Дикий тип, отримана з популяції Батумі
<i>DI</i> ¹⁶⁷	<i>DI</i>	<i>Delta</i> ¹⁶⁷	2-45,0	Дельтаподібні напливи на L2, іноді на інших повздовжніх та поперечних жилках
<i>y Bx w</i>	<i>y</i>	<i>yellow</i>	1-2,9	Тіло жовтого кольору, щетинки та волоски сірого
	<i>Bx</i>	<i>Beadex</i>	1-94,5	Вирізки по краю крила
	<i>w</i>	<i>white</i>	1-105,0	Очі білого кольору
<i>e va</i> (140)	<i>e</i>	<i>ebony</i>	2-83,5	Тіло чорного кольору
	<i>va</i>	<i>varnished</i>	2-231,5	Зменшені очі яскраво червоного кольору
<i>cd</i>	<i>cd</i>	<i>cardinal</i>	4-32,2	Яскраво червоне забарвлення очей

Новий *curled-like* мутант *D. virilis* з деформацією поверхні крила був отриманий у потомстві від дизгенних схрещувань самок лінії 9 з самцями лінії *y Bx w*. Мух утримували в скляних пробірках на стандартному поживному середовищі при температурі 25°C [6].

Для встановлення типу спадкування ставили реципротні схрещування. Аналізували не менше 100 особин потомства від кожного схрещування.

Для визначення локалізації нової мутації проводили рекомбінаційний тест з використанням ліній *DI*¹⁶⁷ та *e va*. Місцеположення нової мутації відносно відомих локусів, використаних для картування, визначали за функцією Холдейна, що враховує частоту рекомбінації з поправкою на частоту подвійних обмінів [7].

Цитологічний аналіз політених хромосом слинних залоз гетерозиготних самок для виявлення можливих аберацій, асоційованих з новою мутацією, проводився за стандартними методиками [6].

Для дослідження генетичних взаємодій нової мутації з іншими криловими мутаціями та генами – компонентами сигнальних систем, отримували мух, що одночасно несли нову та одну чи більше інших мутацій. Було синтезовано лінії, особини яких мали генотип: *curl/curl*; *DI/DI*¹⁶⁷ (на основі ліній *curled-like* та *DI*¹⁶⁷); *curl/curl*; *e/e*; *va/va* (на основі ліній *curled-like* та *e va*) та *curl/curl*; *cd/cd* (на основі ліній *curled-like* та *cd*). Лінії підтримува-

ли шляхом масових схрещувань при температурі 25°C. Особливості фенотипу крила аналізувалися не менш ніж у 100 особин в кожній лінії, враховуючи модифікації прояву *DI*, *e*, *va* та *cd* мутантних фенотипів [8]. У якості контролю використовували особин вихідних ліній. У випадку коли не спостерігалось ніяких модифікацій прояву ознак у особин синтезованих ліній у порівнянні з вихідними, результати таких схрещувань не наводяться та не обговорюються, за винятком випадків, коли змінювався характер спадкування однієї з ознак.

Результати та їх обговорення. У реципротних схрещуваннях з лінією дикого типу всі особини першого покоління характеризувалися нормальною формою крила, в F2 спостерігалось розщеплення на особин дикого типу та мутантних у співвідношенні 3:1, що свідчить про те, що мутантна ознака рецесивна, не зчеплена зі статтю, контролюється одним геном та не впливає на життєздатність.

Цитологічний аналіз політених хромосом слинних залоз гетерозиготних самок не виявив ніяких помітних аберацій, що дозволяє зробити висновок про те, що мутація є генною, а не хромосомною.

Генетичне картування отриманої мутації проводили в два етапи. Спочатку провели серію схрещувань з лінією *DI*¹⁶⁷, що дали змогу з використанням функції Холдейна визначити відстань від локусу *DI* до нової мутації, яка становила 39 cM. Для з'ясування розташування

нової мутації відносно локусу *Dl*, провели схрещування з лінією *e va*, обидві мутації, що несе ця лінія знаходяться дистально від *Dl*. З локусами *e* та *va* було отримано вільне комбінування, що свідчить про те, що досліджувана мутація знаходиться у проксимальному положенні відносно локусу *Dl*. Більш точну її локалізацію вказати неможливо без використання додаткових маркерів, оскільки відстань між новою мутацією та локусом *Dl* у 39 сМ є надто великою, щоб бути точною. Вважається, що говорити про відсутність похибки при локалізації нової мутації можна у випадку, коли відстань між нею та використаними маркерами не перевищує 10 сМ [7]. Отже, досліджувана мутація розташована в проксимальній ділянці 2 хромосоми, але більш точна її локалізація потребує додаткових маркерів.

Отримані мутантні особини мали характерний фенотип. Крило загнуте догори та відведено вбік (рис. 1 а). Біля дистального краю крила спостерігається складка дорзального шару кутикули. Це свідчить про те, що деформація крила відбувається не за рахунок зменшення площі дорзального шару кутикули, а за рахунок порушення розташування жилок в одній площині. В районі кутикулярної складки волоски крила ха-

рактеризуються порушенням просторової орієнтації, що також підтверджує висновок про визначальну роль у формуванні цього фенотипу порушень внутрішньої структури жилок. Про це свідчить також той факт, що у мутантних інтактних імаго спостерігається порушення структури жилки L3, які при приготуванні препарату крила зникають, що в свою чергу може свідчити про інтактність кутикули, яка вкриває жилки. Загалом все крило при такому фенотипі нагадує парус, що знову ж таки свідчить про інтактність структур міжжилкового простору. Отже, можна припустити, що у формуванні крила такого типу ключову роль відіграють порушення внутрішньої структури жилок, і, відповідно, патерна генів, що відповідають за її формування.

Крім порушень розвитку крила, у мутантних особин також спостерігається зміна кольору тіла: Він більш темний у порівнянні з диким типом, з бічних сторін тораксу спостерігається поява двох повздовжніх коричневих смуг.

Фенотип мутантних особин також характеризувався порушенням просторової орієнтації постскутеллярних щетинок, вони, як правило, у мутантних особин пере-хрещені (рис. 1б, в).

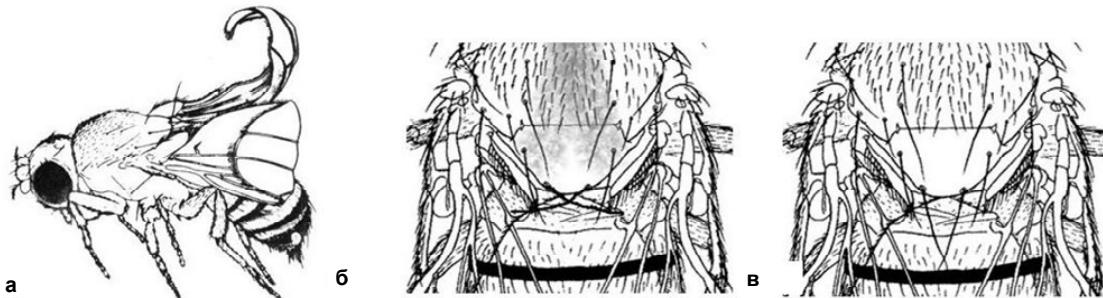


Рис. 1. Фенотиповий прояв нової *curled-like* мутації *D. virilis*: а – загальний вигляд мутантної особини; б, в – торакс та постскутеллярні щетинки мутантної особини та особини дикого типу відповідно

В ході даної роботи також проводилася перевірка на наявність генетичних взаємодій нової мутації з іншими криловими мутаціями та генами – компонентами сигнальних систем *D. virilis*. Було з'ясовано, що у особин, що окрім досліджуваної мали мутацію *ebony*, рецесивна *curl* мутація у 100% випадків проявлялася в гетерозиготі. Необхідно відмітити, що серед генетичних взаємодій локусу *ebony D. melanogaster* ген *curled* не відомий [9]. Отже, можливо, що в процесі дивергенції видів цю генетичну взаємодію видом *D. melanogaster* було втрачено, або існуюча у *D. melanogaster* мутація цього локусу не дозволяє виявити таких взаємодій на відміну від досліджуваної.

В той же час, в жодному випадку не спостерігалось зміни фенотипового прояву для інших використаних для дослідження мутацій, тому дані щодо таких схрещувань не наводяться. Отже, для нової *curled-like* мутації *D. virilis* показано наявність генетичних взаємодій з мутацією *ebony*, не виявлено взаємодій з *Delta*, *varnished* та *cardinal*.

Як вже згадувалося, процеси морфогенезу крила є консервативними, тому не дивно, що у *D. melanogaster* на сьогоднішній день вже описано декілька мутацій, що призводять до появи фенотипу "закручені догори крила". Це насамперед *curled*, *Curly*, *Upturned*, *Curl*, та *cui*. За літературними даними, аналіз з використанням гібридизації *in situ* показав, що до проксимальної ділянки 2 хромосоми *D. virilis*, де розташована описана мутація, є гомологічною ділянкою 3 хромосоми *D. melanogaster*, у якій локалізована крилова мутація *curled* [10]. Крім того, обидві мутації ма-

ють схожий фенотип: крила загнуті догори та відведені вбік, утворюється характерна складка дорзального шару кутикули біля дистального краю крила, порушена просторова орієнтація волосків крила та постскутеллярних щетинок, змінюється характер забарвлення тіла.

Висновки. Отримана нами мутація крила вперше описана у *D. virilis*. Нова мутація рецесивна, плейотропна, локалізована в проксимальній ділянці 2 хромосоми, взаємодіє з мутацією *ebony*, не взаємодіє з мутаціями *Delta*, *varnished* та *cardinal*. Фенотипово мутація проявляється у вигляді загнутих догори крил, порушення просторової орієнтації постскутеллярних щетинок та волосків крила а також більш темного забарвлення тіла. За фенотиповим проявом та локалізацією нова мутація *D. virilis* подібна до *curled D. melanogaster*, тому отримала таку саму назву та символ *curl*.

1. Albagli O, Pelczar H. Myc and cell competition in *Drosophila* // *Med Sci* – 2006. – Vol. 22, № 8-9. – P. 695.
2. Nan Ren, Chunming Zhu, Haeryun Lee, Paul N. Adler Gene expression during *Drosophila* wing morphogenesis and differentiation // *Genetics* – 2005. – Vol. 171. – P. 625–638.
3. Cristina Molnar, Ana Lopez-Varea, Rosario Hernandez, Jose F. de Celis A gain-of-function screen identifying genes required for vein formation in the *Drosophila melanogaster* wing // *Genetics*. – 2006. – Vol. 174. – P. 1635–1659.
4. L.A. Baena-Lopez and A. Garcia-Bellido. Control of growth and positional information by the graded vestigial expression pattern in the wing of *Drosophila melanogaster* // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2006. – Vol. 103, № 37. – P. 13734.
5. Chino. The genetics of *Drosophila virilis* // *Jpn J. Genet.* – 1936. – Vol. 12. – P. 189–210.
6. *Drosophila. A practical approach* / edited by D.B. Roberts – IRL Press, 1986 – 295 p.
7. Тухомірова М.М. Генетический анализ. – Л.: изд-во Ленинградского университета, 1990. – 280 с.
8. Козерецкая И.А., Жук О.В. Генетические взаимодействия аллелей локуса *Delta* с мутациями, нарушающими развитие крыла у *Drosophila virilis*. *Delta* и мутации, связанные с отсут-

твием жилок крыла.// Биополимеры и клетка – 1999. – том 15. – №3. – С. 230–236. 9. FlyBase Gene Report ID FBgn0000387. 10. 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.

Надійшла до редколегії 13.03.07

УДК 633.34:631.527:631.526.26:631.524

Н. Таран, д-р біол. наук, проф., О. Ситар, канд. біол. наук,
Н. Карпенко, канд. біол. наук

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ВІТЧИЗНЯНИХ СОРТІВ *GLYCINE MAX* (L.) MERR

Досліджено біохімічні параметри 8 сортів Glycine max (L.) Merr. 3 сорти сої культурної рекомендовано для вирощування.

Boiochemical parameters of 8 sorts Glycine max (L.) Merr. was investigated. 3 sorts of Glycine max was recommended for growing.

Вступ. На сучасному етапі розвитку світового сільськогосподарства інтенсивно впроваджуються технології використання сої як економічно вигідної культури для харчової, текстильної промисловості та медицини. Великий вміст високоякісного легкозасвоюваного білка (34–40%) у насінні та вегетативній масі, значна кількість вітамінів, мінеральних речовин та олії обумовлюють важливість її використання як цінної продовольчої культури [3, 4].

В останні роки зусиллями селекціонерів в Україні створено і занесено до Реєстру сортів рослин 53 вітчизняних сортів сої, які здатні забезпечувати стабільні урожаї зерна на рівні 25–30 ц/га, але потенційні їх можливості використовуються ще недостатньо [5]. На сьогодні для покращення методів сортової ідентифікації та визначення найбільш перспективних сортів сої культурної актуальним є вивчення біохімічного складу різних сортів, враховуючи основні показники якості насіння [1].

Це, насамперед, вміст білка, характеристика електрофоретичних білкових спектрів, а також вміст сполук тіолової природи.

Тому метою нашої роботи було дослідження вказаних параметрів біохімічного складу насіння у різних сортів сої.

Об'єкт і матеріали досліджень. Об'єктом досліджень було 8 сортів сої культурної (*Glycine max* (L.) Merr.): Одеська-150, Берегиня, Донька, Аркадія Одеська, Алтай, Хаджибей, Мар'яна, Чорнобура. Вміст білка у насінні різних сортів сої визначали за методом Лоурі [7], вільних тіолів – за методом Елмана [6]. Електрофоретичне дослідження білків насіння проводили за методикою Леммлі (у модифікації Конарева) [2].

Результати та їх обговорення. Результати дослідження білкового складу насіння різних сортів продемонстрували, що вищим вмістом білка характеризувались сорти сої *Мар'яна*, *Берегиня*, *Одеська-150*, *Хаджибей* та *Аркадія Одеська* (рис. 1).

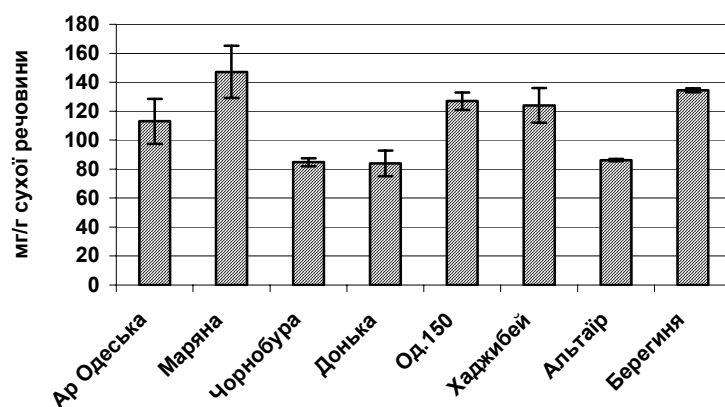


Рис. 1. Загальний вміст білка у насінні досліджуваних сортів сої

Дослідження складу вільних тіолів різних сортів продемонструвало, що сорт *Донька* мав значно вищий їх вміст. Високим вмістом вільних тіолів характеризувалися також сорти *Аркадія Одеська* та *Одеська-150*. Оскільки до вільних тіолів відносяться такі сполуки, як глютаціон, цистеїн, цистін, які визначають якість насіння сої, то ми звернули увагу на раніше проведені дослідження амінокислотного складу різних сортів зерна сої. Дані літератури підтвердили, що сорт *Аркадія Одеська* характеризувався високим вмістом метіоніну та цистіну [7]. Тому при характеристиці якості насіння для комплексної оцінки вмісту сірковмісних амінокислот та глютаціону можна використовувати метод визначення вільних тіолів.

Поряд з визначенням вмісту білка та вільних тіолів для виділення перспективних сортів сої з підвищеним вмістом білка та сірковмісних сполук важливо досліди-

ти склад запасних білків сої. Результати проведених нами досліджень дали можливість встановити наступний спектр білкових фракцій насіння досліджуваних сортів сої. Спектри білків у даній вибірці сортів містили від 9 до 11 фракцій (рис. 3), з них 4-7 фракцій мажорних, решта – міnorних. Дев'ять фракцій, з них три мажорні з молекулярними масами 21, 38, 67 кДа, чотири міnorні з молекулярними масами 22, 30, 45, 52 кДа, та дві фракції несталої інтенсивності (80 та 95 кДа) були притаманні всім сортам. Дві фракції з молекулярними масами 20 та 87 кДа, що відповідають масам основної субодиниці леугеміну та альбуміну, відповідно, виявились сорт-специфічними.