

Митренина Елизавета Юрьевна

ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ
ПРОСТРАНСТВЕННОЙ ОРГАНИЗАЦИИ
ХРОМОСОМ ТРОФОЦИТОВ ЯИЧНИКОВ
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОДГРУППЫ «*melanogaster*»
РОДА *Drosophila*

03.00.15 – генетика

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Томск – 2006

Работа выполнена в НИИ биологии и биофизики при Томском государственном университете

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Стегний Владимир Николаевич

Официальные оппоненты:
доктор биологических наук Кучер Аксана Николаевна,
кандидат биологических наук Перевозкин Валерий Петрович

Ведущая организация:
Институт цитологии и генетики СО РАН (г. Новосибирск)

Защита состоится «18» мая 2006 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.267.10 в Томском государственном университете по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке Томского государственного университета

Автореферат разослан «14» апреля 2006 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук _____ /Е. Ю. Просекина/

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Изучение пространственной организации ядер клеток генеративной сферы и причин ее изменения в процессе видообразования является актуальным. Не менее важно исследование роли пространственных взаимоотношений хромосом в регуляции активности генов. Дрозофила является удобным модельным объектом для различных исследований в области эволюционной [Lemeunier, Ashburner, 1976; Стегний, 1993; Андрианов и др., 2003], популяционной генетики [Вайсман, Захаров, 2003], генетики клеточного цикла [Лебедева, Трунова, Омелянчук, 2005], генетики поведения [Субочева, Ромашова, Ким, 2004], регуляции активности генов [Корочкин, 1983; Мельник и др., 2004; Карпова, Грунтенко, Раушенбах, 2005], пространственной организации ядра [Baiborodin et al., 1993; Стегний, Вассерлауф, 1994; Шарахов и др., 1997; Чубыкин, 2001] и многих других. Известно, что эволюция двукрылых насекомых (маярийных комаров, дрозофил) связана с преобразованиями архитектуры ядер генеративных клеток (системными мутациями). Взаимное расположение хромосом в трофоцитах (питающих клетках) яичников является видоспецифичным [Стегний, 1979; 1993]. Изучение особенностей архитектуры ядер трофоцитов у *Drosophila santomea* позволит уточнить систематическое положение и филогенетические отношения этого вида с другими видами подгруппы «*melanogaster*» рода *Drosophila*.

Выяснение факторов, лежащих в основе системной реорганизации генома, важно для понимания процесса видообразования. Предполагается, что возникновение системных мутаций связано с наличием определенных условий, таких как особая структурная организация генома, инбридное размножение, а также воздействие неблагоприятных абиотических и биотических факторов среды обитания в условиях экологической периферии [Стегний, 1993]. Согласно гипотезе Сведы, изолированное существование лабораторных и природных популяций дрозофилы может привести к возникновению различий в пространственной ориентации хромосом в ядрах половых клеток. При скрещивании особей из разных популяций у гибридов могут возникать несоответствия в ко-ориентации гомологичных хромосом в зиготе, которые приводят к гибриднему дисгенезу – комплексу нарушений, возникающих в генеративной сфере [Sved, 1976]. Изучение взаимосвязи явления гибридного дисгенеза с системным мутагенезом может способствовать лучшему пониманию микроэволюционных процессов.

В настоящее время интенсивно проводится секвенирование геномов различных организмов. Установлена первичная последовательность нуклеотидов ДНК дрозофилы, человека и ряда других биологических объектов. Однако до сих пор наши знания о регуляции работы генов недостаточно глубоки. Предполагается, что одним из важных факторов в регуляции активности генов является взаимодействие различных локусов в пространстве ядра [Гвоздев, 2001; Marshall, 2003]. Экспрессия гена может зависеть от его положения в системе генотипа (эффект положения) [Бирштейн, 1976; Жимулев, 1993] и от физического спаривания (конъюгации) гомологов (трансквекция) [Lewis, 1954]. Исследование влияния перестановки генетического материала на проявление генов дрозофилы является актуальным, поскольку может приблизить нас к пониманию того, как осуществляется контроль экспрессии.

Цель и задачи исследования

Цель работы: изучить особенности пространственной организации хромосом трофоцитов (питающих клеток) яичников дрозофил различных видов и линий.

Задачи:

1. Установить пространственное расположение хромосом в ядрах трофоцитов яичников у *Drosophila santomea*.
2. Исследовать особенности архитектуры ядер питающих клеток яичников у межвидовых гибридов *D. santomea* с другими видами комплекса «*yakuba*»: *D. yakuba*, *D. teissieri*, *D. erecta*.
3. Изучить пространственное расположение гомологичных хромосом у межлинейных гибридов *Drosophila melanogaster* (*Canton`S* x *Berlin*; *Canton`S* x *Oregon R*; *Berlin* x *Canton`S*; *Berlin* x *Oregon R*; *Oregon R* x *Berlin*; *Oregon R* x *Canton`S*).
4. Установить особенности взаимного расположения гомологичных хромосом у межлинейных гибридов *D. melanogaster* в P-M (*Oregon R* x π_2 ; *Canton`S* x π_2) и I-R (*Cha* x *Lu*; *Cha* x W^{1118} ; *Cha* x *Cha RC+*; *JA* x *Lu*; *JA* x W^{1118} ; *JA* x *Cha RC+*) системах гибридного дисгенеза и реципрокных гибридов (W^{1118} x *JA*; *Lu* x *Cha*).
5. Исследовать влияние хромосомных перестроек (*T(X; 2L) 1E, 23CD*; *In(1) 7B-C, 12E-F*; *In(1) 1E, 20B-C*; *In(1) 4B-C, 20C*; *In(2LR)Cy*; *In(2LR)Pm*; *In(3LR)D*) на проявление летальности факультативных доминантных летальных мутаций у *D. melanogaster*.
6. Провести цитогенетический анализ трофоцитов яичников самок *Drosophila melanogaster* с хромосомными перестройками (инверсиями и транслокацией) в гетерозиготном состоянии.

Научная новизна

В настоящей работе впервые изучено пространственное расположение хромосом в ядрах питающих клеток яичников у *Drosophila santomea* Lachaise and Harry и его межвидовых гибридов с *D. yakuba*. Показано, что для политенных хромосом трофоцитов яичников *D. santomea* характерно отсутствие локального хромоцентра, объединение плеч второй и третьей аутосом в центральной области, отсутствие видимых контактов хромосом с ядерной оболочкой и между собой. Анализ межвидовых гибридов *D. santomea* с *D. yakuba* показал видоспецифичность архитектуры ядер питающих клеток дрозофилы. Впервые проведен анализ взаимного расположения хромосом трофоцитов у межлинейных гибридов *D. melanogaster*. Показаны некоторые отличия в ко-ориентации гомологов различных линий в гибридных ядрах. Впервые проведен детальный цитогенетический анализ трофоцитов яичников у гетерозигот *D. melanogaster* по инверсиям и транслокациям. Показано неоднозначное влияние хромосомных перестроек на конъюгацию политенных хромосом питающих клеток.

Практическая ценность

Полученная коллекция факультативных доминантных летальных мутаций может быть использована для дальнейших исследований. Результаты работы включены в курсы лекций «Теория мутагенеза», «Эволюционная генетика» для студентов Томского государственного университета.

Апробация результатов

Результаты проведенных исследований были представлены на I, II, III Международных конференциях «Проблема вида и видообразования» (2000, 2001, 2004 гг., г. Томск), на 2-й Международной конференции «Retrotransposons: their impact on organisms, genomes, and biodiversity» (Хельсинки, Финляндия, 2002 г.), на Первом съезде Общества клеточной биологии (Санкт-Петербург, 2003 г.), на Третьем Съезде ВОГиС (Генетика в 21 веке: современное состояние и перспективы развития, Москва, 6–12 июня 2004 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 9 работ.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материала и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка использованных источников и литературы. Работа изложена на 126 страницах, включает 10 рисунков, 7 таблиц.

Вклад автора

Основные результаты получены автором самостоятельно. Факультативные доминантные летальные мутации выделены совместно с д.б.н. Б. Ф. Чадовым, к.б.н. Е. В. Чадовой, Н. Б. Фёдоровой (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск). Картирование хромосомных перестроек проводилось совместно с к.б.н. Т. А. Колесниковой (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск).

Автор выражает признательность научному руководителю д.б.н., проф. В. Н. Стегнию за постановку интересной темы исследования и обсуждение диссертации. Автор признателен д.б.н. Б. Ф. Чадову за предоставленную возможность работать в лаборатории деления клетки (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск), помощь в выполнении экспериментов, обсуждение работы и предоставление фотографий дрозофил, к.б.н. Е. В. Чадовой, Н. Б. Фёдоровой, к.б.н. Т. А. Колесниковой за помощь в выполнении отдельных этапов работы, к.б.н. И. Э. Вассерлауф за обсуждение работы и содействие в получении фотографий. Автор благодарит Р. В. Анненкова за помощь в оформлении диссертации и моральную поддержку, к.х.н. Ю. В. Митренина за моральную и материальную поддержку, а также всех сотрудников кафедры цитологии и генетики ТомГУ, лаборатории эволюционной цитогенетики (НИИ ББ, г. Томск), лаборатории деления клетки (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск) за поддержку и понимание.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объекты исследования. В работе использовались следующие виды мух: *Drosophila melanogaster*, *D. santomea*, *D. yakuba*, *D. erecta*, *D. teissieri*.

D. santomea любезно предоставлена Ф. Лемениер (F. Lemeunier, Франция). Виды *D. yakuba*, *D. erecta*, *D. teissieri* взяты из сток-центра (США). Использовали следующие линии *D. melanogaster*: Berlin Wild; Canton S; Oregon R (линии дико-го типа); π_2 (*C(1)DX*; *y*; *f*); *Cha*; *JA* (*y*; *w*); *Lumeny*; *W¹¹¹⁸*; *Cha RC+*; *Muller-5* (*w^a*; *B*); *C(1)DX*, *y²*, *w*, *f*; *y*, *ec*, *cv*, *ct*, *v*, *f*; *In(2LR)Cy/In(2LR)Pm*, *In(3LR)D/Sb*. Линии любезно предоставлены К. Бьемоном (C. Biémont, Франция), Б. Ф. Чадовым (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск). Линии с перестройками в X-хромосоме получены на основе линии *yellow* Е. А. Артёмовой в 1999 г. (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск). Использовали четыре линии с перестройками: 1) *T(X; 2L) 1E, 23C-D*; 2) *In(1) 7B-C, 12E-F*; 3) *In(1) 1E, 20B-C*; 4) *In(1) 4B-C, 20C*.

Постановка скрещиваний. Использовали виргинных самок 1-2 суточного возраста. В зависимости от поставленной задачи в пробирки помещали 1-10 пар мух. Культивирование осуществляли на стандартной дрожжевой среде при оптимальной для развития температуре (24-25°C), либо при повышенной (29°C).

Приготовление и анализ цитологических препаратов. Для получения цитологических препаратов трофоцитов яичников брали 1-1,5 суточных самок дрозофилы. Яичники выделяли в растворе 0,7 % NaCl и фиксировали в этанол-уксусном фиксаторе (соотношение 3:1). Окраску производили лактоацетоорсеиновым красителем в течение 10-20 минут. Яичники отмывали в 45% растворе уксусной кислоты и слегка давили на предметном стекле. Препараты хромосом слюнных желез готовили аналогичным способом без предварительной фиксации из личинок третьего возраста. Для анализа пространственного расположения хромосом в ядре у *D. santomea* и ее гибридов с *D. yakuba* готовили надавленные препараты. Окрашенные яичники накрывали покровным стеклом без надавливания для сохранения целостности ядер. Цитологический анализ трофоцитов яичников проводили при помощи микроскопа Laboval - 4 при увеличении 10 x 100 с использованием масляной иммерсии. Фотографии сделаны при помощи фотонасадки Olympus.

Получение хромосомных перестроек. Для получения хромосомных перестроек в X-хромосоме брали самцов и облучали гамма-лучами в дозе 3000 Gr (установка «Игур-1»). Затем их скрещивали с виргинными самками линии *y ec cv ct v f*. Полученных самок F1 сажали индивидуально с самцами *y ec cv ct v f*. Среди самок F1 отбирали тех, в потомстве которых не было кроссоверных сыновей, или их было мало. Этим потомков мужского пола, которые не несли цепочку

маркеров, вводили в культуру, скрещивая с самками линии $C(1)DX, y^2 w f$. Полученные культуры проверяли на наличие перестроек цитологически. Линии с хромосомными перестройками поддерживали в культуре путем скрещивания самцов *yellow* с перестройкой в X-хромосоме с самками со сцепленными X-хромосомами $C(1)DX, y^2 w f$. Чтобы исключить влияние аутосом в тестах по действию перестроек на проявление леталей, самок исходной линии $C(1)DX, y^2 w f$ в течение десяти поколений скрещивали с самцами линии *yellow*. Такая процедура обеспечивает замену аутосом исходной линии $C(1)DX, y^2 w f$ на аутосомы линии *yellow*. Далее самцов с перестройкой скрещивали с этими самками. Таким образом, самцы с хромосомными перестройками отличались от фондовых самцов *yellow* только наличием перестройки. Для получения самок-гетерозигот по инверсиям и транслокации самок фондовой линии *yellow* скрещивали с самцами, несущими перестройки. Виргинных самок F1 использовали для тестирования мутаций.

Для изучения действия перестроек в аутосомах на проявление летальности мутаций получали самок с генотипами: 1) $y/y; +/+; +/+$; 2) $y/y; Cy/+; +/+$; 3) $y/y; Pm/+; +/+$; 4) $y/y; +/+; D/$; 5) $y/y; Cy/+; D/+$; 6) $y/y; Pm/+; D/+$. Для этого самцов линии $In(2LR)Cy/In(2LR)Pm; In(3LR)D/Sb$ скрещивали с самками линии *yellow*. В F1 отбирали самцов с генотипами $y/y; Cy/+; D/+$ и $y/y; Pm/+; D/+$, которых также скрещивали с виргинными самками линии *yellow*. В F2 получили самок всех необходимых генотипов. Данная процедура позволила изучить действие хромосомных перестроек, исключая влияние генного состава других хромосом. В качестве контроля использовали самок $y/y; +/+; +/+$.

Получение летальных мутаций в X-хромосоме. Самцов линии *Berlin Wild* облучали гамма-лучами (доза 3000 Gr, установка «Игур-1») и через 3 часа скрещивали с самками $C(1)DX, y^2 w f$. Каждый из самцов F1 был индивидуально скрещен с двумя виргинными самками *yellow*. Проанализировано потомство 2074 самцов. Отбор мутаций проводился на стадии куколки, непосредственно перед началом вылета потомства. В качестве «перспективных» отбирали пробирки, в которых все куколки были желтого цвета (самцы). Самца-отца скрещивали по очереди с самками $C(1)DX, y^2 w f$ и *Muller-5* для введения мутации в культуру. Самок-матерей переносили на новую среду, чтобы увеличить количество анализируемого потомства.

Статистическая обработка данных. Достоверность различий между контролем и опытами вычисляли с помощью U-теста Манн-Уитни (сравнение долей ядер с асинопсисами у межлинейных гибридов *D. melanogaster*), фи-критерия Фишера (изменение летального действия мутаций хромосомными перестройками), критерия Хи-квадрат (влияние хромосомных перестроек в гетерозиготе на синапсис хромосом). При заданной вероятности $P = 0,95$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пространственное расположение хромосом в ядрах трофоцитов яичников у *Drosophila santomea*

Архитектура ядер трофоцитов яичников двукрылых насекомых (дрозофила, малярийный комар) является видоспецифичным показателем. Анализ пространственного расположения хромосом в этих ядрах позволяет идентифицировать близкие виды, в том числе и гомосеквентные, а также установить филогенетические отношения в видовых комплексах. Видоспецифичность архитектуры ядер проявляется в наличии или отсутствии хромоцентра, связей хромосом с ядерной оболочкой, локализации сайтов связывания на хромосомах, морфологии хромосомных участков прикрепления и в межвидовой разобщенности мест прикрепления гомеологичных хромосом к ядерной оболочке [Стегний, 1979; 1987; Стегний, Вассерлауф, 1994; Стегний, Вассерлауф, Ананьина, 1996].

Вид *D. santomea* Lachaise and Harry обнаружен несколько лет назад на острове Sao Tome западной Экваториальной Африки французскими исследователями. Он отнесен к подроду *Sophophora*, группе «*melanogaster*», подгруппе «*melanogaster*», комплексу видов «*yakuba*», который включает еще четыре близких вида: *D. orena*, *D. erecta*, *D. teissieri*, *D. yakuba*. *D. santomea* хорошо отличима от других видов подгруппы по желтой окраске тела, отсутствию пигментации на брюшке, а также по деталям строения наружных половых органов самцов. Сравнение политенных и митотических хромосом, последовательности гена *period* и аллозимов показало, что данный вид является близким с видом *D. yakuba* [Lachaise et al., 2000; Llopart A. et al., 2002]. Близость *D. santomea* и *D. yakuba* с одной стороны, а также их самостоятельный видовой статус – с другой, подтверждается результатами их гибридизации. Эти виды гибридизуются в лабораторных и естественных условиях обитания. В первом поколении в обоих направлениях скрещивания возникают фертильные самки и стерильные самцы. Причем у потомков мужского пола иногда наблюдаются серьезные нарушения развития [Lachaise et al., 2000; Coyne et al., 2002].

В настоящей работе изучена архитектура ядер трофоцитов яичников 23 самок *D. santomea*, всего проанализировано 549 ядер на разных стадиях компактизации первичных политенных хромосом. Показано, что для хромосом трофоцитов яичников *D. santomea* характерно отсутствие хромоцентра, объединение плеч второй и третьей аутосом в центромержной области, отсутствие явных контактов с ядерной оболочкой и друг с другом (Рисунок 1 а, б). В целом, данное расположение хромосом в ядре у *D. santomea* в значительной степени напоминает таковое у *D. yakuba* (Рисунок 1 в, г) и у *D. teissieri*, существенно отличается от ориентации хромосом в ядре у *D. orena* и *D. erecta* [Вассерлауф, Стегний, 1992].

Одним из главных показателей видоспецифичности архитектуры является сохранение индивидуального положения гомеологичных хромосом в гибридном ядре. Это проявляется в разобщенности мест прикрепления гомеологов к ядерной оболочке, а также в нарушении спаривания гомеологичных хромосом (асинапсисах) [Стегний, 1993]. Поскольку пространственное расположение хромосом трофоцитов яичников *D. santomea* визуально сходно с таковым у *D. yakuba*, мы провели гибридизацию этих двух видов дрозофил для сравнения относительных позиций гомеологов в ядре. Проведенный в настоящей работе анализ препаратов трофоцитов яичников гибридных самок *D. santomea* х *D. yakuba* и *D. yakuba* х *D. santomea* выявил наличие нарушений спаривания гомеологичных хромосом (Рисунок 1 д, е). Подсчитано количество ядер с асинопсисами у гибридов ♀ *D. yakuba* х ♂ *D. santomea*. Проанализировано 10 препаратов яичников гибридных самок, 164 ядра трофоцитов. Единообразия по характеру асинопсирования хромосом не наблюда-

лось. Выявлено наличие ядер с нормально спаренными гомеологами ($27,4 \pm 3,5 \%$), ядер с нарушением синapsиса только в X-хромосоме ($6,7 \pm 2,0 \%$), только в одной аутосоме ($34,8 \pm 3,7 \%$) или в двух аутосомах ($12,2 \pm 2,6 \%$). Встречались ядра с асинapsированными X-хромосомой и одной аутосомой ($9,8 \pm 2,3\%$) и ядра с асинapsисами во всех хромосомах ($9,1 \pm 2,2 \%$). *D. yakuba* и *D. santomea* являются гомосеквентными видами [Lachaise et al., 2000], то есть имеющими одинаковый рисунок политенных хромосом. Наличие высокой доли ядер с нарушением спаривания гомеологичных хромосом у гибридов ($72,6 \pm 3,5 \%$) говорит о том, что в гибридных ядрах сохраняются видоспецифичные позиции гомеологов. Гибридизация между другими видами комплекса «*yakuba*» не удалась.

Таким образом, проведенное нами исследование взаимного расположения первичных политенных хромосом трофоцитов яичников *D. santomea* показало, что этот вид является очень близким виду *D. yakuba* не только по структуре политенных и морфологии митотических хромосом, гену *period* и аллозимам [Lachaise et al., 2000], но и по архитектуре ядер генеративных клеток (трофоцитов). Сходство архитектуры ядер трофоцитов может быть связано с наличием у этих видов общего предка, либо с происхождением *D. santomea* от *D. yakuba*, что ранее предположено другими исследователями [Lachaise et al., 2000]. Тем не менее, пространственное расположение хромосом трофоцитов у этих видов не является идентичным. В гибридных ядрах *D. yakuba* x *D. santomea* выявлены различия по ориентации гомеологов, что свидетельствует о самостоятельном статусе этих видов. Эти данные согласуются с теорией системных мутаций В. Н. Стегния, постулирующей, что видообразование происходит на базе системной реорганизации генома, связанной с изменением ядерной архитектуры [Стегний, 1979; 1987 а].

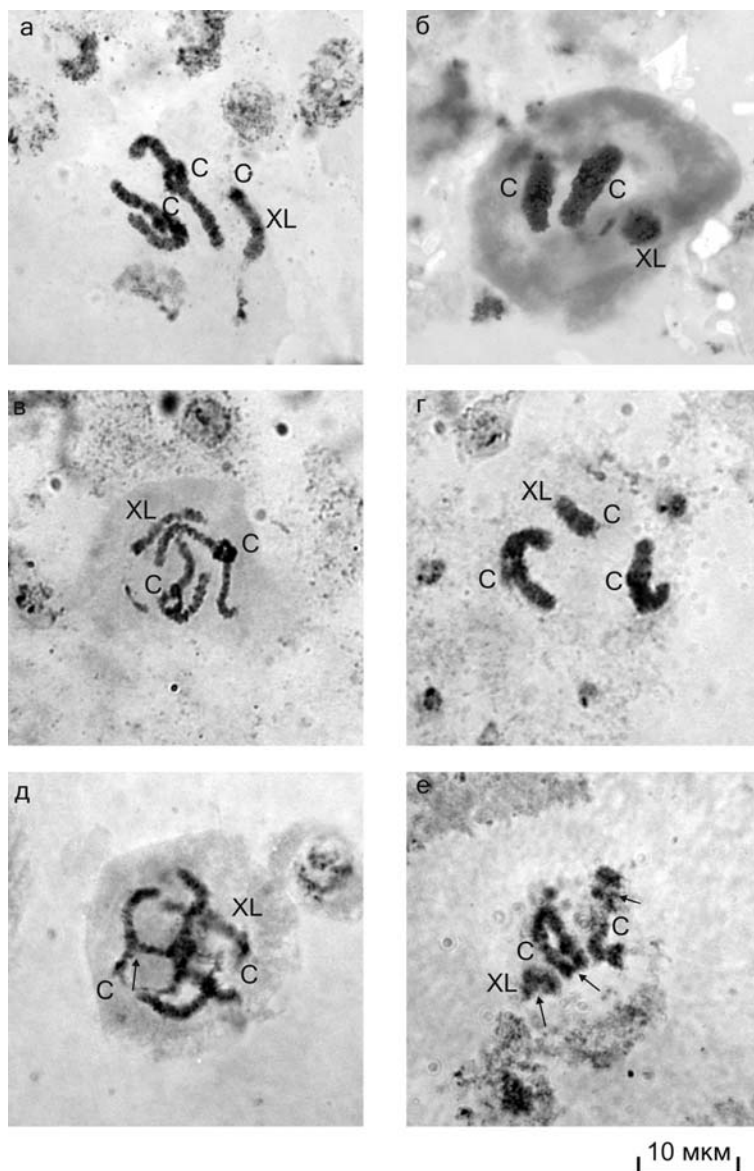


Рисунок 1 – Расположение хромосом в ядре: а, б – *Drosophila santomea*, в, г – *D. yakuba*, д, е – гибрид *D. yakuba* x *D. santomea*. XL – левое плечо X-хромосомы, С – центромерный район, стрелками указаны участки асинapsирования гомологов

**Взаимное расположение первичных политенных хромосом
в ядрах трофоцитов различных линий и межлинейных гибридов
*D. melanogaster***

Выяснение факторов, лежащих в основе системной реорганизации генома важно для понимания процесса видообразования. Предполагается, что одним из таких факторов является инбридинг. Известно, что инбридное размножение

приводит к гомозиготизации генома и инбредной депрессии [Lints, Lints, 1965; Wallace, Madden, 1965]. С другой стороны, показано, что близкородственное разведение и в крайней степени – изогенизация – способствует активации мобильных генетических элементов [Гвоздев, Кайданов, 1986; Ратнер, Васильева, 2000]. Траспозиции МДГ повышают частоты возникновения хромосомных и генных мутаций [Engels, Preston, 1981; 1984]. Мобильные элементы способны перемещать на новое место фрагменты генома [Корочкин, 1983], в том числе и гетерохроматиновые. Диффузный бета-гетерохроматин участвует в поддержании определенной архитектуры ядра [Стегний, Шарахова, 1991], его перемещение может привести к изменению хромосомно-мембранных отношений. Таким образом, мобильные элементы могут играть роль в системном мутагенезе.

Лабораторные линии дрозофилы, как правило, ведут свое начало от ограниченного числа особей и разводятся в условиях, способствующих близкородственному скрещиванию. Таким образом, они могут служить моделью для изучения действия инбридинга на пространственное расположение хромосом в ядре трофоцитов. Анализ ядер межлинейных гибридов позволяет произвести сравнение позиций гомологов относительно друг друга.

В настоящей работе исследовано расположение хромосом ядер трофоцитов яичников 9 линий *D. melanogaster* (*Canton`S*; *Berlin*; *Oregon R*; π_2 ; *Cha*; *JA*; *Lu*; W^{118} ; *Cha RC+*) и межлинейных гибридов (1) *Canton`S* x *Berlin*; 2) *Canton`S* x *Oregon R*; 3) *Berlin* x *Canton`S*; 4) *Berlin* x *Oregon R*; 5) *Oregon R* x *Berlin*; 6) *Oregon R* x *Canton`S*; 7) *Oregon R* x π_2 ; 8) *Canton`S* x π_2 ; 9) *Cha* x *Lu*; 10) *Cha* x W^{118} ; 11) *Cha* x *Cha RC+*; 12) *JA* x *Lu*; 13) *JA* x W^{118} ; 14) *JA* x *Cha RC+*; 15) W^{118} x *JA*; 16) *Lu* x *Cha*). Гибриды 7-го и 8-го типов являются дисгенными в Р-М системе, гибриды 9-14-го типов – в I-R системе гибридного дисгенеза, 15-16-го – реципрокные. Показано, что для всех линий

D. melanogaster характерна сходная архитектура ядер трофоцитов яичников: локальный хромоцентр отсутствует, хромосомные плечи разобщены в пространстве ядра и связаны с ядерной оболочкой центромерными участками хромосом, а XL-плечо и теломерным, хромосома 4 очень компактная, находится в зоне прикрепления центромерных районов хромосомы 3. Выявленные в данном исследовании особенности ко-ориентации хромосомных плеч согласуются с ранее полученными результатами [Стегний, Вассерлауф, 1991a].

Для политенных хромосом дрозофилы характерен соматический синапсис. В результате, число политенных хромосом в ядре уменьшается до гаплоидного [Painter, 1933, цит. по Жимулеву, 1992]. Более детальное исследование показало, что гомологи политенных хромосом могут находиться, по крайней мере, в трех состояниях: 1) полный синапсис (оба гомолога тесно ассоциированы); 2) неполный синапсис (частичный асинапсис, гомологичные хромосомы частично расконъюгированы); 3) отсутствие синапсиса – полный асинапсис (гомологичные хромосомы неспарены по всей длине плеча) [Жимулев, 1992]. Показано, что частота нарушения синапсиса, размер и локализация участков асинапсиса в хромосомах слюнных желез не зависят от температуры выращивания личинок и методики приготовления препаратов [Куличков, Беляева, 1975].

В данном исследовании показано, что для хромосом трофоцитов самок всех изученных линий наиболее характерно состояние полного синапсиса (Рисунок 2 д, е). Выявлено незначительное количество ядер с расхождениями гомологов. Случаи полного асинапсиса плеч хромосом были редки. У гибридных самок всех типов были обнаружены ядра как с полностью синаптированными, так и асинаптированными гомологами (Рисунок 2, а-г). Характер и протяженность асинаптических сегментов варьировал в широких пределах. Были выявлены случаи как полного, так и частичного асинапсиса по разным плечам хромосом. Частичный асинапсис хромосомных плеч, как правило, проявлялся в околотромерных районах, хотя изредка встречались случаи незначительного расхождения гомологов в теломерных областях. Полный асинапсис гомологичных хромосом в ядре наблюдался как по одному плечу, так и по нескольким одновременно, вплоть до полного расхождения всех гомологов, как это наблюдается у межвидовых гибридов дрозофилы [Стегний, Вассерлауф, 1994]. Следует отметить, что, как правило, для хромосом трофоцитов, расположенных в одном фолликуле, было характерно наличие или отсутствие синапсиса.

Количественный анализ частоты встречаемости ядер с нарушениями спаривания гомологичных хромосом у гибридов *Canton`S* x *Berlin*, *Oregon R* x π_2 , *JA* x W^{118} показал индивидуальные различия по данному показателю (Таблица 1). Попарное сравнение выборок при помощи U-теста Манн-Уитни показало наличие достоверных различий по числу асинапсисов (при заданном уровне значимости $p = 5\%$) между выборками самок, полученными при скрещиваниях *Canton`S* x *Berlin* и *JA* x W^{118} ($p = 0.002\%$), *Oregon R* x π_2 и *JA* x W^{118} ($p = 4.14\%$). Достоверных различий между выборками самок F1 *Canton`S* x *Berlin* и *Oregon R* x π_2 выявлено не было ($p = 12.98\%$).

Согласно литературным данным, доли ядер с нарушениями конъюгации в политенных хромосомах слюнных желез у нормальных линий *D. melanogaster* составляют: 6,5-12,5 % [Лапта, Шахбазов, 1976], 9,63-16,57 % [Хасан, 1979], 35,5-43,1 % [Полянская, 1975 б]. В линии с нестабильными мутациями, вызванными мобильными элементами, – 45,45 % [Вагапова, 1991 цит. по Жимулеву, 1993].

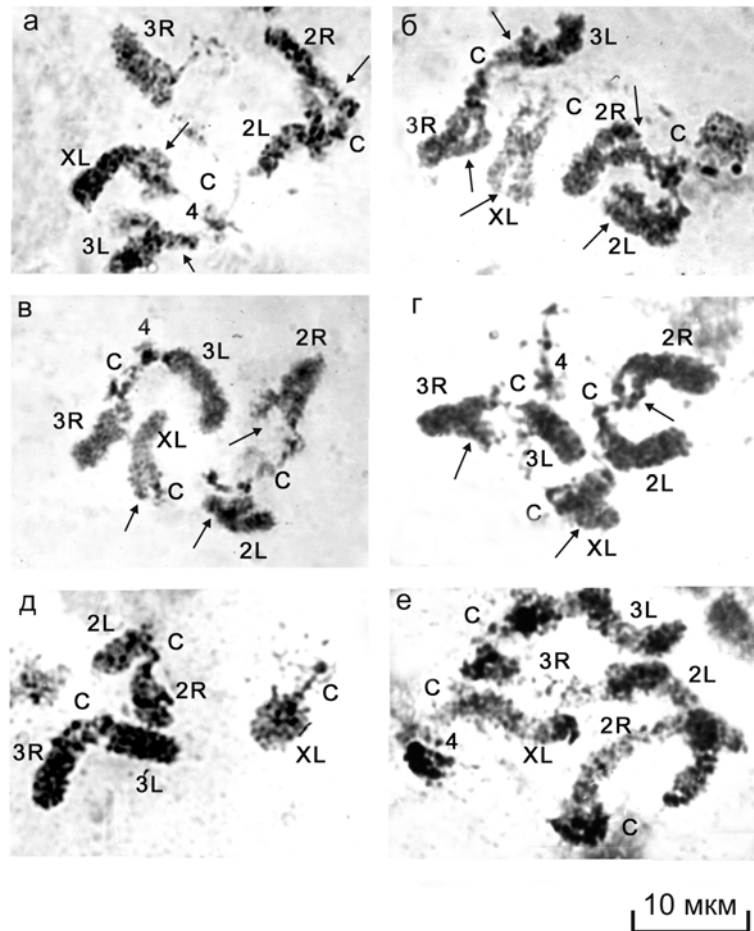


Рисунок 2 – Первичные политенные хромосомы трофоцитов яичников *D. melanogaster*. Гибриды в P-M системе гибридного дисгенеза: а, б – *Canton S* x π_2 ; в – *Berlin* x π_2 ; г – π_2 x *Berlin*. Линии: д – *Canton S*; е – π_2 . XL, 2R, 2L, 3R, 3L, 4 – хромосомные плечи, С – центромерный район, стрелками указаны участки асинапирования гомологов

Таблица 1 – Нарушение синапсиса гомологичных хромосом в трофоцитах яичников у межлинейных гибридов *D. melanogaster*

Схема скрещивания (♀ x ♂)	Доли ядер с нарушениями синапсиса на кросс, %		
	минимальная	максимальная	средняя
<i>Canton S</i> x <i>Berlin</i>	40,0	80,0	60,4 ± 0,3
<i>Oregon R</i> x π_2	45,0	80,0	66,3 ± 0,3
<i>JA</i> x <i>W¹¹¹⁸</i>	60,0	84,0	76,0 ± 0,1

Весьма интересным и до сих пор открытым остается вопрос, каковы причины, лежащие в основе нарушений синаптического спаривания гомологов у межлинейных гибридов? Ряд гипотез предполагает, что асинапсис связан с разнокачественностью гомологов: накоплением точковых мутаций или малых хромосомных перестроек, например, инверсий в пределах одного диска [Евгеньев, Гаузе, 1975], обогащенностью повторами [Евгеньев, 1975], накоплением мобильных элементов генома [Reide, Renz, 1983]. Мы предполагаем, что нарушения синапсиса гомологов в ядрах трофоцитов яичников у межлинейных гибридов *D. melanogaster* связаны с некоторыми различиями в их пространственной ориентации внутри гибридного ядра. Вероятно, эти отличия могут возникать вследствие долгой изоляции и инбридного культивирования мух в лабораторных условиях [Вассерлауф, Митренина, Стегний, 2003].

Несмотря на то, что одним из важнейших критериев вида является скрещиваемость его представителей и производство плодотворного потомства, среди природных популяций и лабораторных линий *D. melanogaster* встречаются такие, при гибридизации которых наблюдается комплекс различных аномалий у гибридов первого и второго поколения, в том числе и стерильность. Это приводит к частичной репродуктивной изоляции некоторых популяций [Kidwell, Kidwell, 1976; Sved, 1976]. Одним из объяснений данного синдрома является гипотеза, предложенная австралийским исследователем Дж. Сведом [Sved, 1976]. Автор объясняет этот феномен различиями линий в пространственном расположении хромосом, которые возникают из-за длительной изоляции мух различных природных и лабораторных популяций. Вследствие этого хромосомам самца одной линии не хватает информации, чтобы правильно ориентироваться в ядре зиготы при гибридизации с самками другой линии. В модели Сведы отсутствуют представления о транспозиции подвижных элементов. Вероятно, пространственные различия в

ориентации гомологичных хромосом приведут к дисгенезу только в случае наличия мобильных элементов у самцов [Picard, 1976; Pelisson, Picard, 1979; Bucheton et al., 1984].

В нашей работе показано, что у дисгенных гибридов дрозофилы наблюдаются несоответствия в ко-ориентации гомологов в трофоцитах яичников, проявляющиеся в асинапсисах. Существуют данные о параллелизме между конъюгацией полигенных хромосом и синапсисом гомологичных хромосом в мейозе [Евгеньев, 1970]. Поскольку трофоциты одного фолликула имеют общее происхождение с ооцитом (от одного цистобласта), т.е. являются сестринскими с ним, можно предположить, что нарушение конъюгации гомологов в полигенных хромосомах свидетельствует о нарушении мейотического спаривания хромосом ооцита. Было установлено, что у самок, гетерозиготных по инверсии, нарушается спаривание гомологов как в ооците, так и в трофоцитах [Чубыкин, 2001 а]. У мейотического мутанта С(3)G с почти полным отсутствием кроссинговера также наблюдается нарушение конъюгации хромосом ооцитов и трофоцитов [Чубыкин, 2001 б]. Исследования пространственной организации хромосом в ооцитах и трофоцитах у межвидовых гибридов малярийных комаров [Стегний, 1987; Стегний, Вассерлауф, 1995] показали отсутствие конъюгации гомологов в обоих типах клеток. Однако надо учитывать определенные различия между конъюгацией гигантских хромосом и спариванием хромосом в мейозе.

С целью выяснения функциональных последствий нарушений синапсиса хромосом трофоцитов яичников была выполнена следующая часть работы.

Влияние пространственных взаимоотношений хромосом на проявление факультативных доминантных летальных мутаций дрозофилы

Работы последних десятилетий показали, что интерфазное ядро имеет определенную внутреннюю архитектуру [Стегний, 1993; Marshall et al., 1996]. Экспрессия генов зависит от их положения в системе генотипа (эффект положения) [Дубинин, Сидоров, 1934; Бирштейн, 1976; Жимулев, 1993], а также от физического спаривания гомологов (транскекция) [Lewis, 1954]. Транскекция – это такие транс-взаимодействия генов, которые могут сопровождаться как их активацией, так и инактивацией [Гвоздев, 2001]. У дрозофилы известно большое количество генов, экспрессия которых зависит от физического спаривания гомологичных хромосом вблизи этого гена [Marshall, Sedat, 1999].

Для решения поставленной задачи нами было выделено 6 мутаций. При их отборе и ведении были отмечены низкая плодовитость мутантных самцов и появление грубых нарушений развития, а также проявление летальности только в определенных условиях. Эти свойства позволили отнести полученные мутации к факультативным доминантным летальным [Чадов и др., 2000; Чадов, 2002]. Условные летальные мутации известны у дрозофилы и некоторых других организмов, однако «условиями» являются внешние факторы [Ashburner, 1989]. В данном случае на проявление летальности влияют генетические факторы: 1) происхождение хромосомы, несущей мутацию (матро- и патроклинность); 2) пол особи; 3) наличие хромосомной перестройки (инверсии, транслокации); 4) генотип партнера в скрещивании [Чадов и др., 2004].

В данном исследовании отбор мутаций проводили по признаку отсутствия или пониженного количества дочерей у мутантных самцов в скрещивании с самками *yellow* (Таблица 2). Низкая плодовитость наблюдалась не только за счет гибели самок в F1, но и самцов без мутации. В потомстве мутантов возникали особи с грубыми нарушениями развития. Аномалии, как правило, являлись асимметричными. Наблюдали особей с отсутствием ноги, крыла, половины груди, с уменьшенным в полтора раза глазом (второй был нормальным), с дополнительным глазом. Были обнаружены мухи с нарушенной формой тергитов, стернитов, с различными нарушениями в развитии крыльев. В основном, эти особи отличались пониженной жизнеспособностью.

Летальное действие мутаций модифицировалось присутствием у самок *yellow* хромосомных перестроек (инверсий и транслокаций) в половой хромосоме и аутосомах. Исследовали действие трех инверсий и одной транслокации, находящихся в X-хромосоме в гетерозиготном состоянии. Снятие летальности хромосомными перестройками индивидуально для каждой мутации (Таблица 2). Транслокация *T(X; 2L) 1E, 23CD* и инверсия *In(1) 7B-C, 12E-F* достоверно снижали летальный эффект мутаций №№ 12, 13, 16, 28, а инверсия *In(1) 4B-C, 20C* – мутаций №№ 3, 12, 13, 16, 28. Инверсия *In(1) 1E, 20B-C* оказывала действие на все шесть мутаций. Эти результаты согласуются с ранее полученными данными [Чадов, 2001]. Самки с перестройками, как и контрольные самки без перестроек, имели маркер *yellow*. Это означает, что отсутствие в потомстве мутантных самцов дочерей не является результатом присутствия у тестерных самок аллеля *yellow*.

Таблица 2 – Потомство мутантных самцов с самками с перестройкам в X-хромосоме

Номер мутации у самца	Самки <i>yellow</i> (контроль)		Самки <i>yellow</i> , T(X; 2L) 1E, 23C-D		Самки <i>yellow</i> , In(1) 7B-C, 12E-F		Самки <i>yellow</i> , In(1) 1E, 20B-C		Самки <i>yellow</i> , In(1) 4B-C, 20C	
	общее число потомков	доля самок, %	общее число потомков	доля самок, %	общее число потомков	доля самок, %	общее число потомков	доля самок, %	общее число потомков	доля самок, %
3	489	0,0	98	0,0	111	0,9	325	7,7	376	5,1
12	550	7,1	333	14,1	518	29,2	596	38,3	726	29,5
13	403	5,7	273	10,3	352	26,7	518	31,7	771	34,5
16	860	11,7	402	20,9	1146	33,2	1017	43,4	1203	34,4
19	129	3,1	50	2,0	100	3,0	186	13,4	170	5,3
28	830	26,1	761	33,9	946	34,7	1003	47,2	783	45,7

На проявление мутантных генов изучено влияние перестроек *Curly*, *Plum*, *Dichaete* в аутосомах (Таблицы 3, 4). Инверсия *Curly* достоверно увеличивала количество выживших дочерей по сравнению с контролем у всех мутантных культур, кроме № 19. Инверсия *Plum* увеличивала долю дочерей у всех мутантов, кроме № 3. Инверсия *Dichaete* оказывала влияние на мутантные культуры №№ 3, 13, 16, достоверно увеличивая количество самок F1 у линии № 13 и уменьшая у двух других линий. Присутствие в генотипе матери двух инверсий *Curly* и *Dichaete* оказывало влияние на все культуры, кроме № 28. При скрещивании самок этого генотипа с самцами культуры № 13 доля самок F1 достоверно меньше, чем в контроле. Тогда как при скрещивании с самцами остальных культур – достоверно выше. Наличие у самки двух инверсий *Plum* и *Dichete* достоверно повышало долю дочерей по сравнению с контролем при скрещивании с самцами линий №№ 12, 13, 16, 28. Данные по изменению летальности согласуются с ранее полученными результатами для других мутаций [Чадов, 2001; Чадов и др., 2004 б].

Таблица 3 – Потомство мутантных самцов с самками с одной перестройкой в аутосомах

Номер мутации у самца	Самка у/у;+/+;+/+ (контроль)		Самка у/у;+/Су;+/+			Самка у/у;+/Pm;+/+			Самка у/у;+/+;+/D		
	всего потомков	доля самок	всего потомков	доля самок		всего потомков	доля самок		всего потомков	доля самок	
				Су+	Су		Pm+	Pm		D+	D
3	607	0,02	296	0,02	0,04	157	0,03	0,01	67	0,00	0,00
12	1265	0,13	418	0,20	0,19	331	0,25	0,18	198	0,10	0,07
13	1276	0,13	501	0,17	0,21	282	0,30	0,13	243	0,15	0,05
16	1547	0,19	554	0,22	0,19	568	0,27	0,19	163	0,07	0,04
19	300	0,04	221	0,02	0,04	188	0,08	0,04	69	0,03	0,03
28	1039	0,33	520	0,23	0,26	442	0,26	0,22	78	0,18	0,10

Таблица 4 – Потомство мутантных самцов с самками с двумя перестройкам в аутосомах

Номер мутации у самца	Самка у/у;+/Су;+/D					Самка у/у;+/Pm;+/D				
	всего потомков	доля самок				всего потомков	доля самок			
		Су+ D+	Су+ D	Су D+	Су D		Pm+ D+	Pm+ D	Pm D+	Pm D
3	177	0,08	0,04	0,08	0,04	26	0,04	0,00	0,00	0,04
12	206	0,07	0,11	0,10	0,11	89	0,11	0,13	0,07	0,03
13	1497	0,02	0,01	0,02	0,01	189	0,14	0,14	0,10	0,08
16	345	0,11	0,09	0,12	0,10	94	0,18	0,12	0,12	0,04
19	109	0,05	0,01	0,02	0,06	7	0,00	0,00	0,14	0,00
28	198	0,11	0,11	0,01	0,13	16	0,06	0,19	0,19	0,19

Проведено сравнение эффекта присутствия в генотипе самки единственной инверсии (*Curly*, *Plum* или *Dichaete*) и пары инверсий (*Curly* с *Dichaete* или *Plum* с *Dichete*). Показано, что нахождение в генотипе самки двух инверсий по сравнению с одной достоверно повышает долю самок F1 в потомстве мутантных самцов следующих культур: № 3 (пары сравниваемых генотипов самок: 1) у; Су и у; Су; D; 2) у; D и у; Су; D; 3) у; D и у; Pm; D), № 12 (пары: 1) у; D и у; Су; D; 2) у; D и у; Pm; D), № 13 (пара у; D и у; Pm; D), № 16 (пары: 1) у; D и у; Су; D; 2) у; D и у; Pm; D), № 19 (пара у; Су и у; Су; D), № 28 (пара у; D и у; Pm; D). Наличие двух инверсий по сравнению с одной понижало долю самок в потомстве мутантных самцов № 13 (сравниваемые генотипы самок: 1) у; Су и у; Су; D; 2) у; D и у; Су; D), № 28 (у; Су и у; Су; D). Полученные данные показывают, что все три периферические инверсии оказывают влияние на проявление мутаций. Однако их влияние неоднозначно. Инверсии *Curly* и *Plum*, находясь в генотипе самки в одиночку или совместно с инверсией *Dichaete*, как правило, повышают долю самок F1 в скрещиваниях с самцами большинства мутантных культур. Инверсия *Dichaete* может повышать, понижать или оказывать нейтральное действие на проявление мутаций. При наличии инверсии у матери в F1 возникают самки, как с перестройками (*Curly*, *Plum*, *Dichaete*), так и самки без них (Таблица 3). Появление последних означает, что снятие летальности не связано с наличием инверсии у выживших потомков. Для снятия летального действия мутаций необходимо присутствие перестройки в геноме материнской особи (материнский эффект перестройки). Этот вывод подтверждают данные о том, что присутствие инверсий *Curly*, *Plum*, *Dichaete* у мутантного самца не снижает действие летали [Чадов, 2001].

Для выяснения роли пространственного расположения хромосом трофоцитов яичников в проявлении летальности мутаций провели цитогенетический анализ ядер трофоцитов яичников самок линии *yellow*, а также самок, гетерозиготных по хромосомным перестройкам. Подсчитывали количество ядер с нарушениями конъюгации гомологичных

хромосом (асинапсисами). Выделяли три класса ядер: 1) ядра без видимого нарушения спаривания гомологов (полный синапсис); 2) ядра с небольшими участками асинапсирования; 3) ядра со значительными нарушениями конъюгации гомологичных хромосом. Для контрольной линии *yellow* ко второму классу ядер относили ядра с асинапсисами в одном из пяти плеч. Для линий, несущих инверсии, затрагивающие одно плечо (№№ 5, 6, 8), – с асинапсисами в двух плечах. Для линий с инверсиями *Cy*, *Pm* – в трех и менее плечах, поскольку нарушение спаривания гомологов в плече, содержащем перестройку, является типичным явлением. Встречаемость ядер различных классов у гетерозигот по перестройкам указана в таблице 5.

Таблица 5 – Нарушение синапсиса гомологичных хромосом в трофоцитах яичников *D. melanogaster* у гетерозигот по хромосомным перестройкам

Линия	Всего ядер	Доли ядер различных классов		
		1	2	3
<i>yellow</i> (контроль)	374	80,8 ± 2,0	16,3 ± 1,9	2,9 ± 0,9
<i>yellow / T(1;2) 1E; 23C-D</i>	95	67,4 ± 4,8	24,2 ± 4,4	8,4 ± 2,8
<i>yellow / In(1) 7B-C; 12E-F</i>	561	47,6 ± 2,1	38,5 ± 2,0	13,9 ± 1,5
<i>yellow / In(1) 1E; 20B-C</i>	530	47,7 ± 2,2	32,5 ± 2,0	19,8 ± 1,7
<i>yellow / In(1) 4B-C; 20C</i>	504	22,8 ± 1,9	43,1 ± 2,2	34,1 ± 2,1
<i>yellow*</i> (контроль)	473	79,2 ± 1,9	15,9 ± 1,7	4,9 ± 1,0
<i>yellow* / In(2LR) CyO</i>	464	0	81,9 ± 1,8	18,1 ± 1,8
<i>yellow* / In(2LR) Pm</i>	525	0	87,8 ± 1,4	12,2 ± 1,4

Анализ трофоцитов яичников показал, что состояние асинапсиса хромосомных плеч наблюдается как в геномах, содержащих хромосомную перестройку, так и в геномах, не содержащих её. Это означает, что нарушение синапсиса не является специфичным для линий, несущих перестройки. Интересно, что в линиях с инверсиями в XL-плече не было постоянного асинапсиса X-хромосомы. В 22,8 – 47,7 % ядер X-хромосомы были синапсированы. Сравнение контрольных выборок и выборок самок с хромосомными перестройками показало достоверные различия по частоте встречаемости ядер различных классов. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что хромосомные перестройки (инверсии и транслокации), находящиеся в гетерозиготном состоянии способны значительно влиять на конъюгацию гомологичных хромосом. Причем они способствуют нарушению синапсиса не только тех плеч, которые затронуты перестройкой, но и других. Так, например, парацентрическая инверсия *In(1)4B-C; 20C* вызывает нарушения синапсиса трех-пяти хромосомных плеч в 34,1 ± 2,1 % ядер питающих клеток яичников, перичентрическая инверсия *In(2LR) CyO* приводит к асинапсированию четырех-пяти плеч в 18,1 ± 1,8 % ядер. Мы предполагаем, что изменение характера конъюгации гомологичных хромосом перестройкой влияет на активность генов.

Питающие клетки яичников двукрылых насекомых играют важную роль в развитии ооцита. Они являются источником большинства необходимых белков, РНК, участвуют в становлении полярных градиентов. Накопленные ооцитом в период оогенеза питательные вещества используются на начальных этапах развития эмбриона. Полярные градиенты различных молекул определяют план строения [Айзенштадт и др., 1977; King, Buning, 1985; Корочкин, 1999]. В связи с этим, правильная работа генома трофоцитов необходима на ранних стадиях развития. Любые, не предусмотренные изменения экспрессии генов, негативно скажутся на этом процессе.

Мы предполагаем, что нарушения синапсиса хромосом трофоцитов яичников дрозофилы могут влиять на работу мутантных генов. Это явление родственно трансекции. Предположение согласуется с нашими данными по изменению летальности под действием инверсий и транслокаций. Перестройки оказывают материнский эффект на проявление мутаций. При скрещивании мутантного самца с самкой, несущей перестройку в X-хромосоме или в аутосомах, летальное действие мутации снижается. Причем выживают самки, как несущие, так и не несущие перестройку. Логично предположить, что материнский эффект может обеспечиваться работой генов в трофоцитах. Таким образом, в настоящей работе показано, что нарушение спаривания гомологов хромосом в питающих клетках яичников дрозофилы может приводить к изменению режимов функционирования генов.

ВЫВОДЫ

1. Установлено пространственное расположение первичных политенных хромосом трофоцитов яичников у *D. santomea*. Показано отсутствие локального хромоцентра, объединение плеч второй и третьей аутосом в центромерной области. В целом, архитектура ядер трофоцитов у *D. santomea* сходна с расположением хромосом в ядре у видов *D. yakuba* и *D. teissierei*, отличается от архитектуры ядер у *D. oreana* и *D. erecta*.
2. Анализ трофоцитов яичников у межвидовых гибридов *D. santomea* и *D. yakuba* выявил различия по ориентации гомологов в гибридных ядрах. Показано, что у них наблюдаются нарушения конъюгации гомологичных хромосом преимущественно в прицентромерных областях. Гибридизация *D. santomea* с другими видами комплекса «*yakuba*» не удалась.

3. Изучено взаимное расположение хромосом у межлинейных гибридов *Drosophila melanogaster* (*Canton`S* x *Berlin*; *Canton`S* x *Oregon R*; *Berlin* x *Canton`S*; *Berlin* x *Oregon R*; *Oregon R* x *Berlin*; *Oregon R* x *Canton`S*). Показаны некоторые отличия во взаимной ориентации гомологов разных линий.
4. Исследовано пространственное расположение хромосом у дисгенных и реципрокных им гибридов дрозофилы в Р-М и I-R системах гибридного дисгенеза (*Oregon R* x π_2 ; *Canton`S* x π_2 ; *Cha* x *Lu*; *Cha* x W^{118} ; *Cha* x *Cha RC+*; *JA* x *Lu*; *JA* x W^{118} ; *JA* x *Cha RC+*; W^{118} x *JA*; *Lu* x *Cha*). Показано, что значительное количество гибридных ядер имеет нарушения конъюгации хромосом: у гибридов *Oregon R* x π_2 в среднем $66,3 \pm 0,3\%$, *JA* x W^{118} – $76,0 \pm 0,1\%$.
5. Исследовано действие трех парацентрических инверсий (*In(1) 7B-C, 12E-F*; *In(1) 1E, 20B-C*; *In(1) 4B-C, 20C*) и одной транслокации (*T(X; 2L) 1E, 23CD*) в X-хромосоме, двух перицентрических инверсий во второй (*In(2LR)Cy*; *In(2LR)Pm*) и одной инверсии в третьей (*In(3LR)D*) аутосомах на проявление летальности мутаций. Показан материнский эффект хромосомных перестроек. Перестройка способна как снижать, так и повышать летальное действие мутаций.
6. Анализ ядер питающих клеток яичников линий, гетерозиготных по хромосомным перестройкам показал, что присутствие инверсии или транслокации изменяет характер конъюгации всех хромосом набора.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Вассерлауф И. Э., **Митренина Е. Ю.**, Стегний В. Н. Изучение механизмов системной мутации при видообразовании // I Международная конференция «Проблема вида и видообразования»: Тез. докл. – Томск: Изд-во Томского университета, 2000. С. 23-24.
2. **Mitrenina E. Y.**, Wasserlauf I. A. Influence of *Drosophila melanogaster* Inbreeding on Spatial Interrelation of Primary Polytene Chromosomes of Ovarian Nurse Cells // Second meeting “Retrotransposons: Their impact on organisms, genomes, and biodiversity”(Helsinki, Finland) . P. 45-46.
3. **Митренина Е. Ю.**, Вассерлауф И. Э. Изучение механизмов реорганизации архитектуры ядра при видообразовании // Эволюционная биология. Том 2. Материалы II Международной конференции «Проблема вида и видообразования». – Томск: Изд-во Томского университета, 2002. С. 375-376.
4. Вассерлауф И. Э., **Митренина Е. Ю.**, Стегний В. Н. Изменение структуры хромосом трофоцитов яичников *Drosophila melanogaster* при гибридном дисгенезе // Генетика. – Т. 38. – 2003. – №5. – С. 687-693.
5. Вассерлауф И. Э., **Митренина Е. Ю.**, Белоногова Н. М., Стегний В. Н. Изменение структуры хромосом в интерфазных ядрах трофоцитов яичников *Drosophila melanogaster* при гибридном дисгенезе и инбридинге // Цитология. – Т. 45. – 2003. – № 9. – С. 855-856.
6. Вассерлауф И. Э., **Митренина Е. Ю.**, Белоногова Н. М., Стегний В. Н. Инбридинг как возможный механизм пространственной реорганизации архитектуры ядер трофоцитов яичников у *Drosophila* // Генетика в 21 веке: современное состояние и перспективы развития: Материалы 3го Съезда ВОГиС, 2004. С. 249.
7. Фёдорова Н. Б., Хоцкина Е. А., **Митренина Е. Ю.**, Чадов Б. Ф. Хромосомная перестройка и видообразование: объяснение связи между событиями // Вестник томского государственного университета (приложение). – 2004. – № 10. – С. 122 – 127.
8. Вассерлауф И. Э., Шелковникова Т. А., **Митренина Е. Ю.**, Стегний В. Н. Нарушения спаривания гомологичных хромосом в ядрах трофоцитов яичников *Drosophila melanogaster* при инбридинге и низкой температуре // Цитология. – Т. 47. – 2005. – № 9. – С. 798-799.
9. Фёдорова Н. Б., Хоцкина Е. А., **Митренина Е. Ю.**, Чадов Б.Ф. Хромосомная перестройка и видообразование: объяснение связи между событиями // Эволюционная биология. Том 3. Материалы III Международной конференции «Проблема вида и видообразования». – Томск. – Томский государственный университет, 2005. С. 107-121.