

ДЕЙСТВИЕ ГИПЕРТЕРМИИ НА МЕЙОЦИТЫ САМЦОВ *Drosophila melanogaster* ИНДУЦИРУЕТ ПОЯВЛЕНИЕ ПОТОМКОВ С НАРУШЕНИЕМ НАБОРА НЕ ТОЛЬКО ОТЦОВСКИХ, НО И МАТЕРИНСКИХ ПОЛОВЫХ ХРОМОСОМ

© 2007 г. А. В. Кьергаард, Л. А. Мамон

Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра генетики и селекции, Санкт-Петербург 199034;
факс: (812) 328-05-41; e-mail: mamon@lm2010.spb.edu

Поступила в редакцию 07.11.06 г.

Для выяснения роли мутации *l(1)ts403 (sbr¹⁰)* в регуляции сегрегации хромосом при клеточных делениях исследовали нерасхождение и потери половых хромосом при действии теплового шока (ТШ) (37°C, 1 ч) на самцов *Drosophila melanogaster*. Показано, что тепловая обработка самцов на стадии куколки приводит к повышению частоты потомков с нарушенным набором половых хромосом не только отцовского, но и материнского происхождения. По исследуемому критерию существует температурночувствительный период сперматогенеза, который, по предположению, приходится на мейоз. В опыте встречаются особи, фенотип которых соответствует особям с двумя половыми хромосомами, обе из которых имеют однородительское происхождение. В опыте частота особей с нарушенным набором хромосом в потомстве самцов, несущих мутацию *sbr¹⁰*, приблизительно вдвое выше таковой в потомстве самцов, не имеющих этой мутации.

Известно, что ген *sbr (small bristles)* у *Drosophila melanogaster* является жизненно важным и проявляет эволюционную консервативность. Его ортологи найдены у самых разных организмов, включая гены *Mex67* у *Saccharomyces cerevisiae* [1, 2], *NXF1* у *Caenorhabditis elegans* [3] и *TAP* у *Homo sapiens* [4, 5], продукты которых отвечают за транспорт большинства, а возможно и всех мРНК из ядра в цитоплазму [6].

Известно также, что мутации гена *sbr* у *D. melanogaster* имеют плейотропный эффект [7]. Одна из них – мутация *l(1)ts403 (sbr¹⁰)* – была выявлена как клеточная леталь [8] и обратила на себя внимание нарушением экспрессии генов, кодирующих белки теплового шока (БТШ), на посттранскрипционном уровне [9–11]. Дальнейшие исследования показали, что при тепловом воздействии данная мутация оказывает широкое плейотропное влияние на многие процессы, в том числе на расхождение хромосом при клеточных делениях [12, 13], конденсацию хроматина [14], клеточную пролиферацию [15], развитие [16] и т.д. Если нарушения синтеза БТШ на посттранскрипционном уровне можно рассматривать как следствие нарушения транспорта мРНК из ядра в цитоплазму, то влияние мутантного аллеля *sbr¹⁰* на расхождение хромосом при тепловом воздействии на самок не находит такого простого объяснения [17]. Следует отметить, что по большинству исследованных признаков (выживаемость, нарушение синтеза БТШ и др.) температурночувствительный аллель *sbr¹⁰* является рецессивным, тогда как влияние данного

аллеля на расхождение хромосом является полудоминантным [18].

Поскольку большинство проявлений мутации *sbr¹⁰* можно наблюдать при тепловом воздействии, важно было определить, зависят ли они от нарушения синтеза БТШ. Проведенные исследования показали, что высокая частота нерасхождения и потерь половых хромосом в мейозе у самок *sbr¹⁰* после ТШ (37°C, 1 ч) не является прямым следствием задержки синтеза БТШ [19, 20].

Учитывая роль продукта гена *sbr* в ядерном экспорте мРНК, можно высказать два основных предположения, объясняющих влияние мутации *sbr¹⁰* на расхождение половых хромосом в мейозе у самок [18]:

1) при тепловом воздействии у мутантов по *sbr¹⁰* нарушается транспорт мРНК, среди которых имеются и те, трансляция которых необходима для обеспечения нормального расхождения хромосом;

2) продукт гена *sbr* полифункционален. В интерфазе, когда имеется ядерная оболочка, данный белок участвует в транспорте мРНК. В то же время в период мейоза и в первых делениях дробления, когда у дрозофилы остаются лишь элементы ядерной мембраны [21, 22], не экспрессируются как геном ооцита [23], так и зиготический геном [24, 25], белок SBR способен взаимодействовать с компонентами аппарата деления клетки и тем самым влиять на расхождение хромосом. Поскольку известно, что гену *sbr* соответствует, по край-

ней мере, два транскрипта [26–28], нельзя исключить, что влияние на расхождение половых хромосом в мейозе при действии ТШ (37°C, 1 ч) на самок *D. melanogaster* является самостоятельным проявлением одного из продуктов данного гена. Кроме того, расхождение хромосом можно рассматривать как активный направленный транспорт макромолекул, в который может быть вовлечен и продукт гена *sbr*.

Для выяснения роли этого гена в определении нормального расхождения хромосом в мейозе важно было ответить на вопрос, влияет ли мутация *sbr*¹⁰ на сегрегацию половых хромосом только у самок или затрагивает этот процесс у обоих полов. Таким образом, в задачу настоящей работы входил одновременный анализ нерасхождения и потерь отцовских и материнских половых хромосом по частоте исключительных потомков, полученных от скрещивания интактных самок с самцами, обработанными ТШ на стадии куколки, в зависимости от наличия в генотипе самцов мутации *sbr*¹⁰.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве отцовских использовали линии *u ct/Dp (1;Y) y*⁺ и *u cv sbr*¹⁰/*Dp (1;Y) y*⁺, а в качестве материнской – линию *u ct B*.

Развитие особей всех линий происходило при температуре 24 ± 0.5°C.

Поскольку самцы-имаго, несущие мутацию *sbr*¹⁰, погибают при действии ТШ (37°C, 1 ч), воздействию подвергали куколок различного возраста (24, 48 и 60 ч), которые в этом отношении являются менее теплочувствительными. В онтогенезе мейотические клетки самцов впервые появляются в момент окукливания [29]. Это давало возможность, анализируя потомков, которые получены в результате последовательных скрещиваний самцов, обработанных на стадии куколки, оценивать последствия теплового воздействия на мейоциты и половые клетки, находившиеся в момент воздействия на смежных стадиях сперматогенеза.

Для осуществления тепловой обработки куколок помещали в бумажные емкости объемом 0.5 см³, которые опускали в предварительно прогретые пробирки, погруженные в воду в термостате УТУ-3. Пробирки закрывали так, чтобы пробки находились ниже уровня воды в термостате.

После вылета имаго ежечасно отбирали самцов, которых скрещивали с виргинными 3-дневными самками. Мух помещали на изюмно-дрожжевую среду и ставили индивидуальные скрещивания в соотношении один самец к одной самке. В течение 3 сут самцов ежедневно пересаживали в другие пробирки к самкам, а самок оставляли в тех же пробирках еще на 6 сут. Получали три по-

следовательные перекидки, что позволяло оценивать динамику изучаемых событий в последовательных стадиях сперматогенеза. В каждой повторности ставили интактный контроль. Развитие потомства происходило при температуре 24 ± 0.5°C.

Частоту исключительных особей, отличающихся по фенотипу от нормальных, определяли в потомстве F1, как отношение числа особей соответствующего фенотипического класса к числу нормальных самок плюс число исключительных самцов. Для учета частоты нарушений сегрегации отцовских и материнских хромосом, приводящих к появлению исключительных потомков при действии ТШ на гаметогенез их отцов, были использованы линии, в которых X- и Y-хромосомы маркированы различными мутациями с видимым проявлением. Используемые схемы скрещиваний позволяли по фенотипу потомков одновременно исследовать нерасхождение и потери как отцовских, так и материнских половых хромосом (рисунок).

Все эксперименты проводили не менее чем в 5 повторностях. Статистическую обработку данных проводили при помощи *t*-критерия Стьюдента, *t*-критерия Стьюдента с преобразованием Фишера и метода χ^2 при уровне значимости 0.05. [30].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Как следует из данных табл. 1, 2, ТШ (37°C, 1 ч) индуцирует появление исключительных самок и самцов, генетическое происхождение которых различно (рис. 1). На существование чувствительной к тепловому воздействию стадии сперматогенеза указывает то, что частота исключительных особей зависит от возраста куколок в момент воздействия и периода регистрации максимальной частоты исключительных потомков, полученных в последовательных суточных перекидках. Так, воздействие на куколок в возрасте 24, 48 и 60 ч приводит к тому, что максимальную частоту появления исключительных особей регистрировали в потомстве, полученном от скрещивания в 1-е, 2-е или 3-и сутки соответственно. При обработке куколок в возрасте 48 и 60 ч частота исключительных особей среди потомков, полученных от скрещивания в 1-е сут и первые 2 сут, соответственно, не отличается от контрольной. Это позволяет предположить, что воздействие ТШ (37°C, 1 ч) на сперматозоиды и сперматиды не влияет на расхождение как отцовских, так и материнских хромосом после оплодотворения спермиями, которые в момент воздействия уже прошли стадию мейоза. При этом во всех вариантах опыта частота возникновения исключительных особей в потомстве самцов *u cv sbr*¹⁰/*Dp (1;Y) y*⁺ достоверно выше соответствующего значения в потомстве самцов *u ct/Dp (1;Y) y*⁺.

Гаметы самки	Характеристика	Гаметы самца						
		y^+ 		y^+ 	0			$y\ cv\ sbr^{10}$
$y\ ct\ B$	Генотип							-
	Фенотип	δ <i>ct B</i> фертильный	♀ <i>y +/B</i>	♀ <i>+/B</i>	δ <i>y ct B</i> стерильный	♀ <i>+/B</i>	δ <i>y ct B</i> фертильный	-
	№ фенотип. класса	10	11	3	4	3	5	-
$y\ ct\ B$ $y\ ct\ B$	Генотип		-	-		-		-
	Фенотип	♀ <i>ct B</i>	-	-	♀ <i>y ct B</i>	-	♀ <i>y ct B</i>	-
	№ фенотип. класса	1	-	-	8	-	8	-
0	Генотип	-			-	-	-	
	Фенотип	-	δ <i>y cv</i> стерильный	δ <i>cv</i> фертильный	-	δ <i>cv</i> стерильный	-	♀ <i>y cv</i>
	№ фенотип. класса	-	2	7	-	6	-	9

Фенотипические классы потомков, получаемых от скрещивания подвергнутых тепловому воздействию самцов линии *y cv sbr¹⁰/Dp(1; Y)y⁺ D. melanogaster* с самками *y ct B*. Курсивом выделены особи, имеющие две половые хромосомы, обе из которых получены от одного из родителей. Знак “-” обозначает нежизнеспособную особь.

Как показано в табл. 1, 2, в потомстве самцов, подвергшихся действию ТШ (37°C, 1 ч) на стадии куколки, получены различные фенотипические классы исключительных особей. В табл. 1 и 2 каждый из фенотипических классов представлен под тем же номером, что и на рисунке. Фенотипические классы исключительных и нормальных особей, получаемых в скрещивании самцов *y ct/Dp(1; Y)y⁺* с самками *y ct B* (табл. 2), даны в соответствии с той же классификацией. Используемые нами схемы скрещиваний по фенотипу потомков позволяют в большинстве случаев однозначно определить, в результате какого генетического события может появиться исключительная особь соответствующего фенотипа (рисунок). При этом потомки классов 1–9 являются исключительными, а потомки классов 10–11 – нормальными.

Потомки классов 1 и 2 могут возникать в результате нерасхождения и потерь материнских половых хромосом соответственно. Класс 3 может появляться в результате нерасхождения отцовских X- и Y-хромосом или транслокации участка Y-хромосомы, маркированного аллелем y^+ ,

на отцовскую X-хромосому или аутосому. Класс 4 может возникать в случае потери отцовских половых хромосом, а класс 5 – при утрате маркера Y-хромосомы – y^+ . Причиной появления класса 6 может стать потеря материнских X-хромосом и транслокация участка, маркированного y^+ , на отцовскую X-хромосому или аутосому; класса 7 – нерасхождение отцовских X и Y-хромосом и потеря материнских половых хромосом; класса 8 – нерасхождение материнских X-хромосом и потеря отцовской половой хромосомы или нерасхождение материнских X-хромосом и утрата участка Y-хромосомы, маркированного y^+ ; класса 9 – нерасхождение отцовских X-хромосом и потеря материнской X-хромосомы.

При этом все классы исключительных потомков, кроме классов 3 и 8, являются уникальными, т.е. их фенотип однозначно соответствует определенному набору половых хромосом. Для ответа на вопрос о хромосомном наборе потомков классов 3 и 8, которые в пределах каждого фенотипического класса не различаются между собой по фенотипу, но могли появиться в результате раз-

Таблица 1. Частота исключительных потомков, полученных от скрещивания интактных самок у *ct B* с самцами у *cv sbr¹⁰/Dp* (1;Y) *y⁺*, подвергнутыми действию ТШ (37°C, 1 ч) на стадии куколки

Вариант	Возраст куколок в момент воздействия, ч	Номер суточной перекидки	Число потомков	Частота исключительных потомков следующих фенотипов, %								
				1	2	3	4	5	6	7	8	9
				самки <i>ct B</i>	самцы у <i>cv</i> стерильные	самки +/B	самцы у <i>ct B</i> стерильные	самцы у <i>ct B</i> фертильные	самцы <i>cv</i> стерильные	самцы <i>cv</i> фертильные	самки у <i>ct B</i>	самки у <i>cv</i>
Опыт	24	1	1182	1.9*	1.0*	1.7*	1.9*	1.7*	0.4	1.6*	1.3*	0.3
		2	1240	1.6*	0.8*	1.5*	1.5*	1.6*	0.2	1.3*	1.3*	0.1
		3	1341	0.5	0.2	0.2	0.9*	0.9*	0.1	0.6	0.9*	0.1
Опыт	48	1	1109	0.3	0.1	0.4	0.4	0.3	0.2	0.2	0.5	0
		2	1245	2.1*	1.9*	2.0*	1.8*	1.0*	0.3	2.2*	1.6*	0.2
		3	1324	1.5*	0.6	1.4*	1.0*	1.2*	0.2	1.3*	1.3*	0.4
Опыт	60	1	1290	0	0	0.2	0.2	0.4	0.2	0.5	0.4	0.1
		2	1280	0.1	0.1	0.2	0.1	0.9*	0.1	0.3	0.5	0.1
		3	1387	1.2*	0.9*	1.6*	1.4*	1.0*	0.4	2.2*	2.2*	0.3
Контроль		1	1233	0	0	0.1	0.1	0.5	0	0	0	0
		2	1369	0	0	0.1	0.2	0.3	0	0	0	0
		3	1407	0	0.1	0	0.1	0.4	0	0	0	0

* Достоверные отличия данных в опыте от соответствующих данных в контроле при уровне значимости $P < 0.05$.

Примечание. Возможные причины возникновения исключительных особей: 1 – нерасхождение материнских X-хромосом; 2 – потеря материнских половых хромосом; 3 – нерасхождение отцовских X и Y-хромосом или транслокация участка, маркированного *y⁺*, на отцовскую X-хромосому; 4 – потеря отцовских половых хромосом; 5 – утрата маркера Y-хромосомы; 6 – потеря материнских X-хромосом и транслокация участка, маркированного *y⁺*, на отцовскую X-хромосому; 7 – нерасхождение отцовских X- и Y-хромосом и потеря материнских половых хромосом; 8 – нерасхождение материнских X-хромосом и потеря отцовской половой хромосомы или нерасхождение материнских X-хромосом и утрата участка Y-хромосомы, маркированного *y⁺*; 9 – нерасхождение отцовских X-хромосом и потеря материнской X-хромосомы.

личных генетических событий, требуется проведение дополнительного генетического анализа.

В ряде случаев (классы 7, 8, 9) отмечено появление исключительных особей, фенотип которых позволяет предположить наличие у них только двух половых хромосом, обе из которых получены от одного родителя. Не исключено, что такие исключительные особи первоначально были трисомиками и восстановили диплоидный набор хромосом в результате потери лишней хромосомы в первых митотических делениях эмбриона.

Кроме того, используемая нами схема скрещивания не позволяла по фенотипу потомков определить, произошло ли нарушение расхождения материнских хромосом в мейозе у самки (как показано на рисунке), или исключительные потомки с нарушенным числом материнских хромосом появились в результате нерасхождения или потери материнских X-хромосом в первом делении митоза после объединения пронуклеусов. Принимая во внимание это обстоятельство, мы на основании фенотипа исключительных потомков можем только констатировать результат наруше-

ния сегрегации материнских или отцовских половых хромосом.

Повышение частоты всех классов исключительных особей в потомстве самцов *sbr¹⁰* в основном приходится на период реализации спермиев, которые в период тепловой обработки находились на стадии мейоза. Так, при тепловой обработке куколок в возрасте 24, 48 и 72 ч частота исключительных особей была максимальной в потомстве, полученном от скрещивания в 1-е, 2-е и 3-и сут, соответственно.

Таким образом, действие ТШ (37°C, 1 ч) на мейоциты самцов, находившихся в момент воздействия на стадии куколки, приводит к нарушению сегрегации как отцовских, так и материнских половых хромосом. При этом все классы исключительных особей можно обнаружить в потомстве самцов обеих изученных линий. Однако частота исключительных особей приблизительно в 2 раза выше в потомстве самцов, гемизиготных по мутации *sbr¹⁰*, чем в потомстве самцов, не несущих данной мутации.

Таблица 2. Частота исключительных потомков, полученных от скрещивания интактных самок у *ct B* с самцами у *ct/Dp (1;Y) y⁺*, подвергнутыми действию ТШ (37°C, 1 ч) на стадии куколки

Вариант	Возраст куколок в момент воздействия, ч	Номер суточной перекидки	Число потомков	Частота исключительных потомков следующих фенотипов, %								
				1	2	3	4	5	6	7	8	9
				самки <i>ct B</i>	самцы у <i>ct</i> стерильные	самки <i>ct +/B</i>	самцы у <i>ct B</i> стерильные	самцы у <i>ct B</i> фертильные	самцы <i>ct</i> стерильные	самцы <i>ct</i> фертильные	самки у <i>ct B</i>	самки у <i>ct V</i>
Опыт	24	1	1286	0.7*	0.7*	0.9*	0.9*	1.2*	0.3	0.3	0.9*	0.1
		2	1232	0.4	0.3	0.5	0.5	0.9*	0.2	0.2	0.5	0.1
		3	1270	0.1	0.2	0.2	0.2	0.5	0.1	0.2	0.1	0
Опыт	48	1	1314	0.1	0.1	0.2	0.4	0.5	0.2	0.1	0.4	0
		2	1403	0.7*	0.5	0.7*	0.8*	0.7*	0.3	0.4	0.6*	0.1
		3	1378	0.5	0.6	0.4	0.3	0.5	0.2	0.1	0.1	0.1
Опыт	60	1	1285	0.0	0	0.2	0.5	0.1	0.1	0.1	0	0
		2	1416	0.1	0	0.2	0.1	0.4	0.1	0.1	0.5	0
		3	1319	0.7*	0.7*	0.6*	0.9*	1.3*	0.4	0.3	0.7*	0.1
Контроль		1	1257	0	0	0.1	0.1	0.4	0	0.0	0.1	0
		2	1269	0	0	0.1	0.2	0.2	0	0.1	0	0
		3	1298	0	0.1	0	0.1	0.4	0	0.0	0	0

* Достоверные отличия данных в опыте от соответствующих данных в контроле при уровне значимости $P < 0.05$.
Примечание. Возможные причины возникновения исключительных особей те же, что и в табл. 1.

ОБСУЖДЕНИЕ

Дрозофила относится к уникальным модельным объектам, позволяющим генетическими методами анализировать нарушение расхождения всех хромосом генома. При этом можно определить, у кого из родителей произошло нарушение в расхождении хромосом, и в каком делении мейоза оно возникло.

Особенность данного объекта заключается в том, что к моменту оплодотворения в сперматозоите дрозофилы мейоз уже завершен, а ооцит находится на стадии метафазы первого деления мейоза [31–33]. Проникновение спермия в яйцо индуцирует цепь цитологических событий, быстро сменяющих друг друга. Материнское ядро заканчивает мейоз и сближается с мужским пронуклеусом. До наступления метафазы первого деления дробления материнские и отцовские хромосомы пространственно разделены на веретене. Этот феномен называется гономерией [34–36].

В период мейоза у самцов формируются чрезвычайно теплочувствительные структуры, обеспечивающие правильную сегрегацию хромосом [37–41]. Таким образом, возникновение нерасхождения и потерь отцовских хромосом при тепловом воздействии на самцов легко объяснимо.

Однако в данной работе было показано, что действие ТШ (37°C, 1 ч) на мейотические клетки самцов приводит к появлению исключительных потомков с нарушенным набором не только отцовских, но и материнских хромосом (фенотипические классы 1, 2, 6, 7, 8 и 9) (табл. 1 и 2). Следовательно, спермий привносит в зиготу определенные факторы, способные повлиять на сегрегацию материнских хромосом после оплодотворения.

Известно, что при оплодотворении вместе со спермием в зиготу попадают отцовские хромосомы, компоненты ядерной мембраны и центросома, а также ассоциированные с ними белки и растворимые белки цитоплазмы [35, 36, 42]. Полученные данные указывают на то, что факторы, влияющие на сегрегацию материнских, а возможно, и отцовских хромосом после оплодотворения, проявляют наибольшую теплочувствительность в период мейоза у самцов.

Более высокая частота появления исключительных особей в потомстве подвергнутых ТШ (37°C, 1 ч) самцов, несущих мутацию *sbr¹⁰*, позволяет предположить, что этот фактор, попадающий в яйцеклетку вместе со спермием и способный повлиять на расхождение хромосом после оплодотворения, может быть продуктом гена *sbr*,

взаимодействовать с ним или формироваться при его участии. Поскольку мы наблюдали эффект только в том случае, когда действовали на мейоциты самцов, и не наблюдали эффекта при действии на постмейотические половые клетки, первые два предположения кажутся менее вероятными, поскольку не объясняют, почему при действии на более поздние стадии сперматогенеза эффект отсутствует.

Таким образом, предположение об участии белка SBR в формировании предполагаемого фактора или факторов кажется наиболее вероятным, тем более, что исключительные особи всех наблюдаемых нами классов присутствуют, хотя и с меньшей частотой, в том случае, когда действию высокой температуры подвергали самцов у *ct/Dp(1;Y)^{y+}*, не несущих мутацию *sbr¹⁰* (табл. 2). Данный процесс проявляет большую теплочувствительность в присутствии мутации *sbr¹⁰* у самцов.

Среди факторов, попадающих в яйцеклетку со спермием, могут быть мРНК или белки, контролирующие процесс расхождения хромосом. Поскольку продукт гена *sbr* относится к рецепторам ядерного экспорта мРНК [43], он может быть вовлечен в формирование факторов как РНКовой, так и как следствие белковой природы. Остается определить природу этих факторов.

Мейотический период сперматогенеза играет особую роль в формировании факторов, важных для нормального расхождения хромосом. Такие факторы могут попадать в яйцеклетку вместе со спермием, являясь составной частью centrosom, белков хроматина или кинетохоров. Поскольку первые деления в оплодотворенном яйце происходят в отсутствие транскрипции [23–25], недостаток функционально активных факторов, попадающих в яйцеклетку со спермием, может привести к перераспределению этих факторов и тем самым вызвать нарушение расхождения как отцовских, так и материнских хромосом в первых митозах дробления.

Появление исключительных потомков с измененным числом отцовских хромосом можно объяснить нарушением расхождения половых хромосом в мейозе у самцов. Однако появление исключительных потомков с измененным числом материнских хромосом под влиянием спермия, попадающего в ооцит, трудно объяснить нарушениями мейоза в ооците. Ядро зрелого ооцита *D. melanogaster* находится на стадии метафазы I, и мейоз завершается после оплодотворения, но мейоз может осуществляться и в неоплодотворенном яйце после его откладки [44]. Таким образом, попадание спермия не является обязательным условием завершения мейоза в ооците. Однако роль компонентов спермия важна в осуществлении первого митотического деления. Известно, что веретено первого митоза дробления у *D. melanogaster* формируется из материала ооцита с участием отцовской centrosom, в то время как ооцит своей centrosomой не содержит [35, 36, 45]. Это позволяет предположить, что с centrosomой в ооцит могут попасть факторы, способные повлиять на характер расхождения хроматид как отцовских, так и материнских хромосом. Наиболее подходящими на роль таких факторов являются мРНК, поскольку небольшое количество этих молекул за счет трансляции может обеспечить построение аппарата расхождения хромосом и необходимый контроль периодичности его функционирования. Это особенно важно в первые часы эмбрионального развития *D. melanogaster*, которые протекают в отсутствие транскрипционной активности зиготического генома [46].

Попадание в ооцит отцовских мРНК, возможно, локализованных в centrosome, позволяет объяснить, как отцовские детерминанты, в формировании которых принимает участие ген *sbr*, могут повлиять на расхождение материнских хромосом после оплодотворения. Если действительно наблюдаемое нами нарушение расхождения материнских хромосом происходит после оплодотворения в первом митотическом делении и индуцируется попаданием спермия, который подвергался тепловому воздействию в мейотический период своего развития, то это может создавать предпосылки и для возникновения так называемых однородительских дисомий (uniparental disomy), описанных у человека. Из-за хромосомного импринтинга, характерного для млекопитающих, однородительские дисомии у человека приводят к серьезным формам патологии. При возникновении однородительских дисомий число хромосом не отличается от нормального. Тем не менее хромосомный набор нарушен, поскольку обе хромосомы какой-то гомологичной пары унаследованы от одного из родителей [47, 48].

Использование линий дрозофилы, в которых каждая половая хромосома была маркирована мутациями с видимым проявлением, позволило показать, что в потомстве обработанных самцов с достаточно высокой частотой появляются особи, которые могли возникнуть в результате совпадения двух процессов: нерасхождения материнских половых хромосом с одновременной потерей отцовской половой хромосомы или наоборот. Появление таких особей позволяет предположить, что нарушение расхождения материнских хромосом, приводящее к появлению исключительных потомков, скорее всего происходит в первом делении митоза, когда с участием отцовской centrosomой происходит формирование веретена первого митотического деления.

Возникновение подобных событий у мутантной линии дрозофилы *sbr¹⁰* с более высокой частотой, чем в линии дикого типа, позволяет исследовать

довать механизмы этого явления, а также роль гена *sbr*¹⁰ в обеспечении стабильности генетического аппарата как самок, так и самцов. Связь различных мРНК с центросомами, способная обеспечить асимметрию в распределении детерминантов, влияющих на развитие, между дочерними клетками [49], делает привлекательной гипотезу о том, что ген *sbr*, а возможно и его ортологи, играет особую роль в функционировании центросомы. Принимая во внимание эволюционный консерватизм изучаемого гена *sbr* и факторов, контролирующих расхождение хромосом, особое значение приобретают исследования с использованием таких генетически разработанных модельных объектов, как *D. melanogaster*.

Итак, полученные нами данные позволили предположить существование фактора или факторов, попадающих в яйцеклетку вместе со спермием и способных повлиять на процесс расхождения как отцовских, так и материнских хромосом после оплодотворения. Процесс формирования этих факторов приходится на мейотический период сперматогенеза и, по-видимому, осуществляется при участии продукта гена *sbr*.

Работа была поддержана грантами РФФИ (проект № 00-04-48514), Фондом Роберта Хавемана (Robert Havemann Scholarship, Germany).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Segref A., Sharma K., Doye V. et al. Mex67p, a novel factor for nuclear mRNA export, binds to both poly(A)⁺RNA and nuclear pores // EMBO J. 1997. V. 16. № 11. P. 3256–3271.
2. Hurt E., Sträer K., Segref A. et al. Mex67p mediates nuclear export of a variety of RNA polymerase II transcripts // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. № 12. P. 8361–8368.
3. Tan W., Zolotukhin A.S., Bear J. et al. The mRNA export in *Caenorhabditis elegans* is mediated by Ce-NXF-1, an ortholog of human TAP/NXF and *Saccharomyces cerevisiae* Mex67p // RNA. 2000. V. 6. № 12. P. 1762–1772.
4. Gruter P., Tabemero C., van Kobbe C. et al. TAP, the human homolog of Mex67p, mediates CTE-dependent RNA export from the nucleus // Mol. Cell. 1998. V. 1. № 5. P. 649–659.
5. Kang Y., Cullen B.R. The human TAP protein is a nuclear mRNA export factor that contains novel RNA-binding and nucleoplasmic transport sequences // Genes Develop. 1999. V. 13. № 9. P. 1126–1139.
6. Sträer K., Hurt E. Nuclear RNA export in yeast // FEBS Lett. 1999. V. 452. № 12. P. 77–81.
7. Мамон Л.А., Бондаренко Л.В., Третьякова И.В. и др. Последствия клеточного стресса при нарушенном синтезе белков теплового шока у дрозофилы // Вестн. С.-Петербург. ун-та. 1999. Сер. 3. Вып. 4. № 24. С. 100–114.
8. Arking R. Temperature-sensitive cell-lethal mutants of *Drosophila*: isolation and characterization // Genetics. 1976. V. 80. № 3. P. 519–537.
9. Евгеньев М.Б., Левин А.В. Влияние ts-мутации на экспрессию генов, индуцируемых тепловым шоком у *Drosophila melanogaster*. Сообщение I. Анализ синтеза белков // Генетика. 1980. Т. 16. № 6. С. 1026–1029.
10. Левин А.В., Лозовская Е.Р., Евгеньев М.Б. Влияние высокой температуры на экспрессию генов, индуцируемых тепловым шоком у *Drosophila melanogaster*. Сообщение II. Анализ действия ts-мутации // Генетика. 1984. Т. 20. № 6. С. 949–953.
11. Евгеньев М.Б., Денисенко О.Н. Влияние ts-мутации на экспрессию генов, индуцируемых тепловым шоком у *Drosophila melanogaster*. Сообщение III. Синтез белков, родственных БТШ70 // Генетика. 1990. Т. 26. № 2. С. 266–271.
12. Мамон Л.А., Мазур Е.Л., Чуркина И.В., Барабанова Л.В. Влияние высокой температуры на частоту нерасхождения и потерь половых хромосом у самок *Drosophila melanogaster l(1)ts403* с дефектом в системе белков теплового шока // Генетика. 1990. Т. 26. № 3. С. 554–556.
13. Мамон Л.А., Барабанова Л.В., Костромина Н.Н. Частота нерасхождения и потерь половых хромосом в оогенезе у мутанта *l(1)ts403 D. melanogaster* с дефектом в системе белков теплового шока при действии аноксии и высокой температуры // Генетика. 1992. Т. 28. № 4. С. 64–71.
14. Куцкова Ю.А., Мамон Л.А. Последствия экстремальных воздействий на соматические клетки *Drosophila melanogaster* в условиях нарушенного синтеза белков теплового шока // Генетика. 1996. Т. 32. № 10. С. 1406–1416. (Kutskova Yu.A., Mamon L.A. The consequences of stress effects on *Drosophila melanogaster* somatic cells in conditions of disturbed synthesis of heat shock proteins // Rus. J. Genetics. 1996. V. 32. № 10. P. 1222–1230.)
15. Мамон Л.А., Куцкова Ю.А. Роль белков теплового шока в восстановлении клеточной пролиферации после воздействия высокой температурой на личинку *D. melanogaster* // Генетика. 1993. Т. 29. № 5. С. 791–798.
16. Мамон Л.А., Nikitina E.A., Golubcova E.V., Pugachova O.M. Heat shock induced cellular and early embryonic death in *Drosophila melanogaster ts*-mutant strain // Pathophysiology. 1998. V. 5. (Suppl. 1). P. 5.
17. Мамон Л.А., Комарова А.В., Бондаренко Л.В. и др. Формирование термотолерантности у линии *Drosophila melanogaster l(1)ts403* с нарушенным синтезом белков теплового шока // Генетика. 1998. Т. 34. № 7. С. 920–928. (Mamon L.A., Komarova A.V., Bondarenko L.V. et al. Development of thermotolerance in *Drosophila melanogaster* line *l(1)ts403* with a defect in heat-shock protein synthesis // Rus. J. Genetics. 1998. V. 34. № 7. P. 761–768.)
18. Никитина Е.А., Комарова А.В., Голубкова Е.В. и др. Полудоминантное влияние мутации *l(1)ts403 (sbr*¹⁰) на нерасхождение половых хромосом в мейозе у самок *Drosophila melanogaster* при тепловом воздействии // Генетика. 2003. Т. 39. № 3. С. 341–348. (Nikitina E.A., Komarova A.V., Golubkova E.V. et al. Semidominant effect of the *l(1)ts403 (sbr*¹⁰) mutation of sex chromosome nondisjunction in meiosis in

- Drosophila melanogaster* females exposed to heat // Rus. J. Genetics. 2003. V. 39. № 3. P. 269–275.)
19. Мамон Л.А., Комарова А.В., Никитина Е.А. и др. Доминантные и рецессивные эффекты мутации *l(1)ts403* у *Drosophila melanogaster* // Тез. докладов 2-го съезда ВОГиС. Санкт-Петербург, 1–5 февраля 2000. Т. 2. С. 52–53.
 20. Комарова А.В. Изучение нерасхождения и потерь половых хромосом в мейозе у *Drosophila melanogaster* при нарушении синтеза белков теплового шока: Дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург: СПбГУ, 2002. 203 с.
 21. Glover D.M., Alphey L., Axton M. et al. Mitosis in *Drosophila* development // J. Cell Sci. Suppl. 1989. V. 12. P. 277–291.
 22. Glover D.M. Mitosis in the *Drosophila* embryo – in and out of control // Trends in Genet. 1991. V. 7. P. 125–132.
 23. King R.C., Burnett R.G. Oogenesis in imago *Drosophila*. V. Mutations which affect nurse cell nuclei // Growth. 1957. V. 21. P. 163–271.
 24. Zalokar M. Autoradiographic studies of protein and RNA during early development of *Drosophila* eggs // Dev. Biol. 1976. V. 49. P. 425–437.
 25. Edgar B.A., Schubiger G. Parameters controlling transcriptional activation during early *Drosophila* development // Cell. 1986. V. 44. P. 871–877.
 26. Третьякова И.В. Молекулярно-генетический анализ участка ДНК *Drosophila melanogaster*, содержащего жизненно важный ген *l(1)ts403*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Санкт-Петербург: СПбГУ, 2000. 16 с.
 27. Wilkie G.S., Zimyanin V., Kirby R. et al. Small bristles, the *Drosophila* ortholog of NXF-1, is essential for mRNA export throughout development // RNA. 2001. V. 7. № 12. P. 1781–1792.
 28. Corey C.A., Wilkie G.S., Davis I., Van Vactor D. Small bristles, DmNXF1, is required for the morphogenesis of multiple tissues during *Drosophila* development // Genetics. 2001. V. 159. № 4. P. 1659–1670.
 29. Литвинова Е.М. Биология размножения дрозофилы. Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. Новосибирск: Наука, 1977. С. 19–61.
 30. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высш. школа, 1990. 352 с.
 31. Huettner A.F. Maturation and fertilization *Drosophila melanogaster* // J. Morphol. 1924. V. 39. P. 249–265.
 32. Cooper K.W. Normal spermatogenesis in *Drosophila* // Biology of *Drosophila*. N.Y. 1950. P. 1–61.
 33. Bairati A. Struttura ed ultrastruttura dell'apparato genitale maschile *Drosophila melanogaster* // Meig. Zeitschr. Zellforsch. 1967. B. 76. S. 56–99.
 34. Sonnenblick B.P. The early embryology of *Drosophila melanogaster* // Biology of *Drosophila*. N.Y., 1950. P. 62–167.
 35. Riparbelli M.G., Callaini G. Meiotic spindle organization in fertilized *Drosophila* oocyte: presence of centrosomal components in the meiotic apparatus // J. Cell Sci. 1996. V. 109. P. 911–918.
 36. Callaini G., Riparbelli M.G. Fertilization *Drosophila melanogaster* centrosome inheritance and organization of the first mitotic spindle // Develop. Biol. 1996. V. 176. № 2. P. 199–208.
 37. Brown C.R., Hong-Brown L.Q., Doxsey S.J., Welch W.J. Molecular chaperones and the centrosome // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 824–840.
 38. Cataldo L., Mastrangelo M.A., Kleene K.C. Differential effects of heat shock on translation of normal mRNAs in primary spermatocytes, elongated spermatids and Sertoli cells in seminiferous tubule culture // Exptl Cell Res. 1997. V. 231. № 1. P. 206–213.
 39. Vidair C.A., Doxsey S.J., Dewey W.C. Heat shock alters centrosome organization leading to mitotic dysfunction and cell death // J. Cell Physiol. 1993. V. 154. № 3. P. 443–455.
 40. Coakley T. Hyperthermia effects on the cytoskeleton and on cell morphology // Temperature and animal cells: Symp. Soc. Experim. Biology. 1987. № 41. P. 187–211.
 41. Debec A., Courgeon A.M., Maingourd M., Maisonhaute C. The response of the centrosome to heat shock and related stresses in a *Drosophila* cell line // J. Cell Sci. 1990. V. 96. P. 403–412.
 42. Palermo G., Munne S., Cohen J. The human zygote inherits its mitotic potential from the male gamete // Hum. Reprod. 1994. V. 9. № 7. P. 1120–1125.
 43. Wilkie G.S. *Drosophila melanogaster* mRNA for tip associating protein (*sbr* gene). GenBank/EMBL/DDBJ 1999. 12.21:AJ251947 ([http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Search&db=Nucleotide&doptcmdl=GenBank&tool=FlyBase&term=AJ251947\[ACCN\]](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Search&db=Nucleotide&doptcmdl=GenBank&tool=FlyBase&term=AJ251947[ACCN])). 21 Dec. 1999.
 44. Doane W.W. Completion of meiosis in uninseminated eggs of *Drosophila melanogaster* // Science. 1960. V. 132. P. 677–678.
 45. Schatten G. The centrosome and its mode of inheritance: the reduction of the centrosome during gametogenesis and its restoration during fertilization // Develop. Biol. 1994. V. 165. P. 299–335.
 46. Edgar B.A., Schubiger G. Parameters controlling transcriptional activation during early *Drosophila* development // Cell. 1986. V. 44. № 6. P. 871–877.
 47. Ledbetter D.H., Engel E. Uniparental disomy in humans: development of an imprinting map and its implications for prenatal diagnosis // Human Mol. Genet. 1995. V. 4. P. 1757–1764.
 48. Engel E. Uniparental disomy (UPD), genomic imprinting and a case for new genetics // Ann. Genet. 1997. V. 40. P. 24–34.
 49. Lambert J.D., Nagy L.M. Asymmetric inheritance of centrosomally localized mRNA during embryonic cleavages // Nature. 2002. V. 420. № 6916. P. 682–686.