

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Биолого-
почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии
наук (БПИ ДВО РАН)

Совет молодых ученых БПИ ДВО РАН

Дальневосточный федеральный университет (ДВФУ)

Школа естественных наук

I ВСЕРОССИЙСКАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

***«Современные исследования
в биологии»***

25 - 27 сентября 2012 г.

г. Владивосток

ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ПО ДОБАВОЧНЫМ ХРОМОСОМАМ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ НА ПРИМЕРЕ ВОСТОЧНОАЗИАТСКОЙ МЫШИ

Г.В. РОСЛИК

Биолого-почвенный институт ДВО РАН, г. Владивосток

roslik_g@mail.ru

Изучение полиморфизма по В-хромосомам важно для понимания существования и роли «лишней» ДНК у млекопитающих. На модельном объекте *Apodemus peninsulae* (Rodentia) показана актуальность применения основных современных цитогенетических методов при исследовании полиморфизма по В-хромосомам.

STUDY OF B CHROMOSOME POLYMORPHISM IN MAMMALS IN CASE OF THE KOREAN FIELD MOUSE

G.V. ROSLIK

Institute of Biology & Soil Science, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences,
Vladivostok, Russia

roslik_g@mail.ru

To study of B chromosome polymorphism is very important for understanding the existence and role of the "extra" DNA in the Mammalia. There have been shown the relevance of basic modern cytogenetic methods in the study of B chromosome polymorphism on the model object as *Apodemus peninsulae* (Rodentia).

Проблема хромосомного полиморфизма - одна из центральных в цитогенетике. Популяционно-генетические исследования млекопитающих в целом весьма важны для понимания процесса видообразования, особенно – у хромосомно-полиморфных видов. Не касаясь полиморфизма по основному набору хромосом, здесь пойдет речь лишь о сверхчисленных к основному набору (добавочных, или В-) хромосомах. Теоретическая ценность исследований кариотипов с В-хромосомами важна для понимания существования и роли «лишней» ДНК в организме млекопитающих.

С каждым годом увеличивается число публикаций, указывающих на наличие у млекопитающих разного таксономического ранга В-хромосом. Согласно последней сводке, добавочные хромосомы присутствуют в кариотипах 55 видов млекопитающих [17], хотя другие исследователи называют примерно 70 видов млекопитающих с В-хромосомами [10]. Частота встречаемости этих структур может быть различной у разных видов, популяций и особей.

Восточноазиатская мышь *Apodemus peninsulae* (Rodentia) Thomas, 1906 является уникальным модельным объектом исследования В-хромосом млекопитающих по ряду причин. Во-первых, у этого вида почти по всему ареалу с очень высокой частотой выявлена сложная система В-хромосом [13]. Во-вторых, число В-хромосом изменчиво в широких пределах: от 0 до 30 - в популяциях Сибири [2] и от 0 до 7 - в популяциях Дальнего Востока России [6]. В-третьих, добавочные хромосомы отличаются наибольшим разнообразием морфотипов, в сравнении с другими млекопитающими. Так, размеры их варьируют от макрохромосом, несколько превышающих первую пару аутосом [14], до едва видимых точечных микро В-хромосом [4, 3], и морфология – от мета- до акроцентрической. В-четвертых, для этого вида характерен внутритканевой мозаицизм по В-хромосомам, когда их число изменчиво в клетках одной особи. Животные со стабильным кариотипом имеют один клон клеток, а особи-мозаики - два или более.

В таблице приведены основные методики, являющиеся весьма актуальными при исследовании полиморфизма млекопитающих. Благодаря этим методам удалось всесторонне изучить кариотипы восточноазиатской мыши ряда сибирских и дальневосточных популяций и показать различия между этими популяциями: в спектрах числовой изменчивости В-хромосом, характере мозаицизма, картинах С-, G-, QН-окрашивания В-хромосом [12, 1, 11,

13, 5, 6, 7, 2], особенностям локализации ядрышкообразующих районов на двуплечих В-хромосомах [16, 15]. Также были выявлены различия в составе ДНК В-хромосом сибирских и дальневосточных мышей и предположены разные пути возникновения В-хромосом географически отдаленных популяций восточноазиатской мыши либо из аутосом либо из половых хромосом [16, 8, 9].

Таблица

Применение цитогенетических методов в исследованиях полиморфизма по В-хромосомам

Методы окрашивания	Краткая характеристика метода	Применение методов для В-хромосом (Bs) <i>A. peninsulae</i> (AP)
Рутинное окрашивание	Позволяет подсчитать общее число хромосом и визуально идентифицировать А- и В-хромосомы	- возможность выявить число Bs, - описать разнообразие их размеров и морфологии (морфотипы), - выяснить характер мозаицизма (число клонов)
Дифференциальное окрашивание	Позволяет идентифицировать аутосомы, половые хромосомы и судить об особенностях тонкой структурной организации А- и В-хромосом	
С-окрашивание	Позволяет выявить особенности локализации структурного С-гетерохроматина (часто С+ районы соответствуют поздно реплицирующимся районам хромосом), выявить половые Х и Y хромосомы	- показана преимущественная гетерохроматиновая природа Bs, - выявлены особенности окрашивания Bs мышей дальневосточных популяций (с гомогенным окрашиванием целых В-хромосом) и сибирских и японских (о-в Хоккайдо) популяций (с прицентромерным окрашиванием В-хромосом, аналогично А-хромосомам), - для сибирских популяций известно до 16 типов С-окраски Bs
G-окрашивание	Поперечная исчерченность и чередование темных (G+) и светлых (G-) блоков по длине хромосом позволяет четко идентифицировать пары хромосом	-показаны особенности дальневосточных (преимущественно целиком гомогенное окрашивание или окрашивание некоторых макро Bs, аналогичное половой X-хромосоме, но рисунок поперечной исчерченности более размыт) и сибирских популяций (сложный рисунок окрашивания)
QH-окрашивание	Используются флуорохромы, по интенсивности Q+ флуоресценции судят об обогащенности АТ-парами оснований ДНК	- отмечен яркий характер флуоресценции макро Bs и слабый микро Bs
Ag-NOR-окрашивание	Локализация ядрышкообразующих районов хромосом (ЯОР)	- выявлены ЯОР на некоторых макро В-хромосомах AP двуплечей морфологии, НО не у всех особей и не во всех популяциях
FISH-окрашивание	Создание ДНК-библиотек из А- и В- хромосом, последующая <i>in situ</i> гибридизация и выяснением гомологии с районами ДНК-проб	- обнаружено два типа повторов Bs (оба есть у мышей Сибири и только один – у AP Дальнего Востока), - не показано гомологии ДНК Bs мышей популяций Сибири и Дальнего Востока России, - гомология А- и В-хромосом AP (гипотеза происхождения из А-хромосом)

Список литературы

1. Борисов Ю.М. Популяционная цитогенетика грызунов (Mammalia, Rodentia) // Итоги науки и техники. Сер. Общая генетика. Популяционная цитогенетика животных / Под ред. Г.Г. Порошенко. М.: ВИНТИ, 1981. Т. 7. С. 79-152.
2. Борисов Ю. М., Афанасьев А. Г., Лебедев Т. Т., Бочкарёв М. Н. Множество микро-В-хромосом в сибирской популяции мышей *Apodemus peninsulae* ($2n = 48 + 4-30$ В-хромосом). Генетика. 2010. 46 (6): 798–804.
3. Борисов Ю. М., Бочкарев М. Н. Разнообразие и индивидуальность вариантов системы В-хромосом у мышей *Apodemus peninsulae*. Генетика. 2008. 44 (12) : 1660-1667.
4. Волобуев В.Т. Кариологический анализ трех сибирских популяций азиатской лесной мыши *Apodemus peninsulae* (Rodentia, Muridae) // Докл. АН СССР. 1979. Т. 248, № 6. С. 1452-1454.
5. Рослик Г.В. Географическая изменчивость добавочных (В-) хромосом восточноазиатской мыши *Apodemus peninsulae* Thomas, 1906 (Rodentia, Mammalia): дисс...канд. биол. наук / Биолого-почвенный ин-т ДВО РАН. Владивосток, 2006. 252 с.
6. Рослик Г. В., Картавцева И. В. Полиморфизм и мозаицизм по числу В-хромосом у восточноазиатской мыши *Apodemus peninsulae* (Rodentia) Дальнего Востока России. Цитология. 2009. 51 (11) : 929-939.
7. Рослик Г. В., Картавцева И. В. Морфотипы В-хромосом *Apodemus peninsulae* (Rodentia) Дальнего Востока России. Цитология. 2012. Т. 54, № 1. С. 66–77.
8. Рубцов Н. Б., Карамышева Т. В., Картавцева И. В., Андрееenkova О. В., Бочкарев М. Н., Рослик Г. В., Рубцов Д. Н., Перепелов Е. А., Бугров А. Г. В хромосомы: ДНК, происхождение, эволюция. Биологические Мембраны. 2005. 22 (3) : 196-211.
9. Рубцов Н. Б., Борисов Ю. М., Карамышева Т. В., Бочкарев М. Н. Механизмы происхождения и эволюции В хромосом у восточноазиатских мышей *Apodemus peninsulae* (Mammalia, Rodentia): ДНК. Генетика. 2009. 45 (4) : 449-457.
10. Трифонов В. А., Дементьева П. В., Беклемишева В. Р., Юдкин Д. В., Воробьева Н. В., Графодатский А. С. Добавочные хромосомы, сегментные дубликации и эволюция. Генетика. 2010. 46 (9) : 1234-1236.
11. Abe S., Han S.H., Kojima H., Ishibashi Y., Yoshida M.C. Differential staining profiles of В-chromosomes in the East-Asiatic wood mouse *Apodemus peninsulae* // Chromosome Science. 1997. Vol. 1, № 1. P. 7-12.
12. Hayata I. Chromosomal polymorphism caused by supernumerary chromosomes in the field mouse, *Apodemus giliacus* // Chromosoma. 1973. Vol. 42. P. 403-414.
13. Kartavtseva I. V., Roslik G. V. A complex В chromosome system in the Korean field mouse *Apodemus peninsulae*. Cytogenet. Genome Res. 2004. 106 (2-4) : 271-278.
14. Kartavtseva I. V., Roslik G. V., Pavlenko M. V., Amachaeva E. Yu., Sawaguchi S., Obara Y. The В-chromosome system of the Korean field mouse *Apodemus peninsulae* in the Russian Far East. Chromosome Sci. 2000. 4 : 21-29.
15. Matsubara K., Nishida-Umehara C., Tsuchiya K., Nukaya D., Matsuda Y. Karyotypic evolution of *Apodemus* (Muridae, Rodentia) inferred from comparative FISH analyses. Chromosome Res. 2004. 12 : 383–395.
16. Rubtsov N. B., Karamysheva T. V., Andreenkova O. V., Bochkaev M. N., Kartavtseva I. V., Roslik G. V., Borisov Y. M. Comparative analysis of micro and macro В chromosomes in the Korean field mouse *Apodemus peninsulae* (Rodentia, Murinae) performed by chromosome microdissection and FISH. Cytogenet. Genome Res. 2004. 106 (2-4) : 289-294.
17. Vujošević M., Blagojević J. В chromosomes in populations of mammals // Cytogenet. Genome Res. 2004. 106 (2-4) : 247-256.