

ССВЕТ НАУЧНОЙ МОЛОДЕЖИ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

МАТЕРИАЛЫ IV КОНФЕРЕНЦИИ
МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ,
ПОСВЯЩЕННОЙ М. А. ЛАВРЕНТЬЕВУ

Новосибирск, 17–19 ноября, 2004 г.

Часть II

гуманитарные науки, науки о жизни,
науки о земле, экономические науки

за исключением целевой были защищены образования комплементарного комплекса с олигонуклеотидом.

Наши исследования показали, что в 4 – 7 звенных петлях происходит расщепление РНК со скоростью в несколько раз превышающей расщепление фосфодиэфирных связей в остальной части молекулы. Бинарная система, предложенная в данной работе основана на том, чтобы искусственно повысить чувствительность фосфодиэфирных связей РНК за счет их выпетливания. Наши исследования показали, что можно достичь направленного расщепления в петлях большого размера (4 – 7 оснований), не блокируя остальные сайты расщепления 96-звенной РНК. Направленное расщепление РНК происходит, видимо, вследствие создания напряжения в петле, необходимого для эффективного протекания реакции трансэтерификации.

Работа поддержана грантом СО РАН в поддержку молодых ученых и грантами РАН (№ 219), РФФИ (02-04-48664), The Wellcome Trust (GRIG № 063630), CRDF REC 008, грантом по программе «Ген-направленные биологически-активные вещества».

ЛИТЕРАТУРА

1. Bibillo A., Figlerowicz M., Ziomek K., and Kierzek R. The nonenzymatic hydrolysis of oligoribonucleotides. VII. Structural elements affecting hydrolysis // *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2000. V. 19, P. 977-94.
2. Hosaka H., Sakabe I., Sakamoto K., Yokoyama S., Takaku H. Sequence-specific cleavage of oligoribonucleotide capable of forming a stem and loop structure // *J. Biol. Chem.*, 1994. V. 269. P. 20090-20094.
3. Kuznetsova I.L., Sil'nikov V.N. Small ribonuclease mimics. "Artificial Ribonucleases", Ed. Marina A. Zenkova in *Nucleic Acids and Molecular Biology*, 2004, V. 13, P. 111-128., Springer Verlag
4. Zagorowska I., Kuusela S., and Lonnberg H. Metal ion-dependent hydrolysis of RNA phosphodiester bonds within hairpin loops. A comparative kinetic study on chimeric ribo/2'-O-methylribo oligonucleotides // *Nucleic Acids Res.* 1998. V. 26, P. 3392-6
5. Vlassov A. V., Vlassov V.V., and Uhlenbeck O. C. RNA hydrolysis catalyzed by imidazole as a reaction for studying the secondary structure of RNA and complexes of RNA with oligonucleotides // *Dokl. Akad. Nauk.* 1996 V. 349 P. 411-413
6. Bibillo A., Figlerowicz M., and Kierzek R. The non-enzymatic hydrolysis of oligoribonucleotides VI. The role of biogenic polyamines // *Nucleic Acids Res.* 1999. V. 27, P. 3931-3937
7. Riepe A, Beier H, Gross H.J. Enhancement of RNA self-cleavage by micellar catalysis // *FEBS Lett.* 1999. V. 457, N. 2, P.193-199
8. Zenkova M, Beloglazova N, Sil'nikov V, Vlassov V, Giege R. RNA cleavage by 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane-imidazole conjugates // *Methods Enzymol.* 2001, V. 341, P. 468-90
9. Zenkova M.A, Beloglazova N.G. Site-specific artificial ribonucleases: conjugates of oligonucleotides with catalytic groups. "Artificial Ribonucleases", Ed. Marina A. Zenkova in *Nucleic Acids and Molecular Biology*, 2004, V. 13, P. 189-222, Springer Verlag
10. Kuzuya, A., Mizoguchi R., Morisawa F., Machida K., and Komiyama M. Metal ion-induced site-selective RNA hydrolysis by use of acridine-bearing oligonucleotide as cofactor // *J Am Chem Soc.* 2002. V. 124, P. 6887-6894.

ФИЛОГЕНИЯ И СИСТЕМАТИКА РИНХИТИД И ТРУБКОВЕРТОВ (COLEOPTERA: RHYNCHITIDAE, ATTELABIDAE) МИРОВОЙ ФАУНЫ

А. А. Легалов

Институт систематики и экологии животных СО РАН, legalov@ngs.ru

Ринхитиды (*Rhynchitidae*) – это древние жуки, известные с поздней юры. Можно предположить, что первоначально они развивались в генеративных органах голосеменных растений, а затем перешли на покрытосеменные, при этом образовалось несколько экологических групп (3 объединяли жуков, не сворачивающих листья, и 2 - "листовертов"), достигнувших к настоящему

времени значительного разнообразия (около 1100 видов). Для выявления филогенетических связей между трибами в семействе Rhynchitidae была построена дендрограмма (рис. 1), при создании которой были использованы 50 признаков.

Согласно полученной филограмме трибы семейства Rhynchitidae объединяются в две группы, имеющие ранг надтриб. Исходной группой для семейства ринхитид является надтриба Rhinocartitae, известная из позднего мела. Данная надтриба включает самые примитивные трибы, средний ИП которых составляет 8,3. Эта небольшая группа состоит из 6 триб (Paleocartini, Vossicartini, Rhinocartini, Proteugnamptini, Sanyrevilleini и Auletorhinini). К апоморфным признакам, выраженным в надтрибе Rhinocartitae, относятся сильно редуцированные стили яйцеклада, надкрылья обычно без бороздок и удлинённые членики булавы усиков (у обоих полов). Друг от друга трибы данной надтрибы довольно хорошо обособлены и образуют две ветви. Первая ветвь состоит из 3 примитивных триб (Paleocartini, Sanyrevilleini и Auletorhinini) со средним ИП, равным 7,3 и синапоморфных по редуцированным бороздкам. Трибы Sanyrevilleini (ИП = 7) и Auletorhinini (ИП = 8) образуют сестринскую группу и отличаются восьмым стернитом самца без ясной аподемы. Вымершая триба Paleocartini (ИП = 7) характеризуется апоморфным расположением усиков. Вторая ветвь образована трибами Vossicartini, Proteugnamptini и Rhinocartini сближаемыми из-за короткой головотрубки. Их средний ИП равен 9,3. Триба Vossicartini (ИП = 9) наиболее обособлена от остальных триб надтрибы. Она характеризуется апоморфными признаками – короткой, сильно уплощенной головотрубкой и слабо выраженной булавой усиков. Замечу, что в этой надтрибе, только в трибе Vossicartini, хорошо выражены бороздки на надкрыльях (плезиоморфия). Из триб надтрибы Rhinocartitae Vossicartini довольно близка более продвинутой трибе Proteugnamptini и Rhinocartini. Трибы Proteugnamptini (ИП = 9) и Rhinocartini (ИП = 10) образуют особую группу. Важнейшими синапоморфными признаками, сближающими их, являются следующие апоморфные признаки (короткая, не уплощенная головотрубка и субмедиально прикрепленные усики и обычно длинная булава усиков у обоих полов).

Средний ИП входящих триб, относящихся к надтрибе Rhynchitidae составляет 14,9. Основная аутапоморфия этой надтрибы – наличие зубца на наружном крае. В надтрибе Rhynchitidae первой ответвляется от главного ствола слабо продвинутой триба Auletini (ИП = 8), которая характеризуется такими плезиоморфными признаками, как совместно закругленные вершины надкрылий, аулетоидное строение гастральной спиккулы (как правило) и примитивное вооружение эндофаллуса. Из важных апоморфных черт, проявляющихся у наиболее развитых форм в этой трибе, следует отметить пятна из волосков на вершинах надкрылий и пучки волосков на передних тазиках у самцов. На примитивность Auletini, помимо морфологии, указывают, во-первых, связь некоторых ее представителей с голосеменными растениями, и, во-вторых, развитие личинок входящих в нее видов в генеративных органах растений, предварительно подгрызенных самкой. Отмечу, что этот метод приготовления кормового субстрата для личинок является исходным для надтрибы Rhynchitidae. Он наблюдается не только у всех представителей триб ринхитид (Rhynchitidae) и трубкавертов (Attelabidae), но и у некоторых долгоносиков (Curculionidae). Остальные трибы этой надтрибы в отличие от трибы Auletini, как правило, обладают субмедиально или субапикально прикрепленными усиками.

Следующей ответвляется вымершая триба Brenthorrhinoidini (ИП = 11), которая характеризуется тремя апоморфиями: иногда сильно утолщенными бедрами, обычно короткими максиллярными пальцами, а также удлинённым и сильно расширенным первым члеником лапок.

Очень интересна близкая к трибам Auletini и Brenthorrhinoidini триба Minurini (ИП = 9), обладающая удивительным для ринхитид плезиоморфным признаком – сросшимися первым и вторым вентритами (у всех остальных представителей Rhynchitidae срастаются три первых вентрита). В трибе Minurini наблюдаются два важных апоморфных состояния признаков: субмедиально прикрепленные усики и сильно редуцированные стили яйцеклада. Остальные трибы надтрибы Rhynchitidae, согласно филогенетической схеме, отличаются от примитивных Auletini, Brenthorrhinoidini и Minurini следующими апоморфными признаками: передними тазиками у самцов с пучком волосков (а иногда и ямкой), отдельно закругленными надкрыльями и пигидием, как правило, не скрытым ими. Их характеризует более высокий средний ИП (17,7).

Триба Cesauletini (ИП = 13) внешне очень сходна с Auletini, однако обособлена от нее. Это сходство определяется в первую очередь полностью редуцированными бороздками надкрылий и строением гастральной спиккулы. Вероятно, от данной группы могла произойти триба Eugnamptini.

По признакам субмедиального или субапикального прикрепления усиков (апоморфия), нормально развитых стилей яйцеклада (реверсия), а также способности имаго (хотя бы у некоторых видов) сворачивать трубки, Eugnamptini, Isotheini, Pterocolini, Rhynchitini и Byctiscini выделяются в особый комплекс. Наиболее примитивна из приведенных выше триб триба Eugnamptini (ИП = 14), имеющая, как и плезиотипные трибы Rhinocartitae, Auletini, Minurini и Cesauletini, аулстоидное строения гастральной спикеры. При плезиоморфном строение гастральной спикеры триба Eugnamptini обладает апоморфным асимметричным вооружением эндофаллуса и обычно вырезанной вершиной эдеагуса. Отмечу, что у некоторых представителей данной трибы, впервые среди ринхитид наблюдается сворачивание трубок из листьев для развития потомства (группа Ib). Более примитивные виды трибы Eugnamptini развиваются в листовых пластике (подгруппа Ib3).

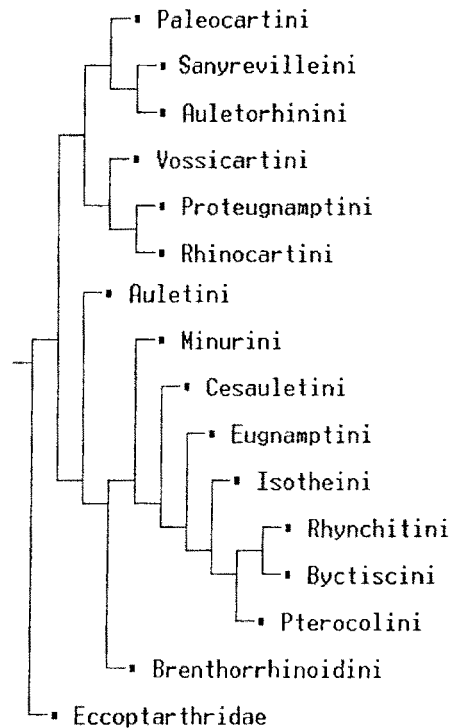


Рис. 1. Филогения семейства Rhynchitidae

Триба Isotheini (ИП = 16) представлена формами, преимущественно сворачивающими трубки, и рассматривалась большинством систематиков как наиболее продвинутая в данном семействе. В результате проведенных исследований выяснилось, что она не только не является таковой, обладая ИП, равным всего 15, но и выступает в качестве особого направления (совместно с Eugnamptini) в эволюции ринхитид, которая пошла по пути сворачивания воронкообразных трубок для развития потомства. Isotheini характеризуется важными апоморфными признаками: 1- или 2-члениковыми лабиальными пальцами, направленной влево гастральной спикерой и обычно не скрытым надкрыльями пропигидием. Эти признаки, наряду с укорачиванием головотрубки и возникновением шейной перетяжки, возникли при дальнейшем совершенствовании способов сворачивания трубок.

Ринхитоидным типом вентральной спикеры характеризуются как триба Pterocolini (ИП = 20), так и довольно близкие к ней Rhynchitini и Byctiscini. Основные апоморфные признаки, отличающие Pterocolini, заключаются в широко разделенных тазиках, строении голеней и внешнем сходстве с некоторыми Attelabinae. Такое строение трибы Pterocolini можно рассматривать как приспособление, выработанное какой-либо группой, сходной с подтрибой Temnocerina (триба Rhynchitini), при переходе к комменсализму - жизни в трубках американских Attelabinae (трибы Pilolabini и Hybolabini).

Условно высшими ринхитидами можно считать близкие трибы Rhynchitini и Byctiscini, являющиеся сестринскими группами и отличающимися от остальных триб передними тазиками у самцов с ямкой и пучком волосков (синапоморфия). В данных трибах у самцов иногда бывают направленные вперед зубцы на боках переднегруди.

Триба *Rhynchitini* (ИП = 19) – самая богатая видами в семействе, обладает очень сложной таксономической структурой. Ее представители характеризуются различными апоморфными признаками. Относящиеся к ней виды развиваются как в вегетативных, так и в генеративных органах растений. При этом исходной в данной трибе, вероятно, была связь с вегетативными органами растений, а переход на цветы и плоды – результат реверсии.

К важнейшим апоморфным признакам трибы *Vyctiscini* (ИП = 24) можно отнести узкий лоб, метэпистерны не достигающие задних тазиков, наличие лопастей на первом вентрите, вооружение эндофаллуса биктискоидного типа и коническую голову. В трибе наблюдается переход от развития внутри плодов к особому способу сворачивания листьев в пакеты.

Таким образом, можно отметить, что семейство ринхитид образует две крупные ветви. Наиболее апотипной является надтриба *Rhynchititae*, представители которой смогли приспособиться не только к развитию в различных частях растения, но и к сворачиванию трубок. Эта надтриба состоит из 9 хорошо обособленных триб. По ИП эти трибы образуют три группы: 1. *Auletini*, *Brenthorhinoideini* и *Minurini*; 2. *Cesauletini*, *Eugnamptini* и *Isotheini*; 3. *Pterocolini*, *Rhynchitini* и *Vyctiscini*.

Семейство *Attelabidae*, насчитывающее около 1000 видов и известное из палеоцена, состоит из подсемейств *Attelabinae* и *Apoderinae*. Для анализа филогенетических отношений (рис. 2) триб в семействе *Attelabidae* были использованы 40 признаков.

Самая примитивная группа (ИП = 6) в трубковертах (рисунок) – триба *Pilolabini*, обладающая рядом плезиоморфных признаков, в том числе положением мукро на внутреннем, а ункуса на внешнем вершинном крае голени. У всех остальных триб семейства *Attelabidae* наблюдается апоморфное состояние признака – мукро и ункус расположены на внутреннем вершинном крае голени. Этот признак позволяет разделить подсемейство *Attelabinae* на две надтрибы *Pilolabitae* и *Attelabitae*.

Следующей от главного ствола ответвляется *Euopsini* – наиболее примитивная триба в надтрибе *Attelabitae*. *Euopsini* считается второй по древности после *Pilolabini*, поскольку у нее имеется важная плезиоморфная черта – подбородок в основном с 3 зубцами, тогда как у остальных триб их обычно 2 или 1. Вместе с тем, виды *Euopsini* в процессе эволюции приобрели значительное число апоморфий: треугольная нижняя аподема эдеагуса, узкий лоб, слабо выпуклые глаза, наличие пучков волосков на брюшке у самки, наличие рядов волосков на брюшке у самца, а также 1-члениковые лабиальные пальпы. Эти признаки повышают ИП данной трибы до 12.

От *Euopsini* произошла американская триба *Euscelini*. Наибольшее сходство у *Euscelini* прослеживается с представителями подтрибы *Archeuopsina* и особенно родом *Riedelinus*, представители которого обладают зубцами на бедрах, зубцевидно вытянутыми плечами и слабо сближенными или не сближенными глазами. Такой аутапоморфный признак, как короткая у обоих полов прекоксальная часть переднегруди, резко выделяет *Euscelini* среди остальных аттелабид.

Следующую ветвь образует очень разнообразная триба *Hybolabini*. По ИП она занимает следующее место после *Euscelini* (8 и соответственно, 9). Основными апоморфиями группы являются слабо выпуклые глаза (признак, возникающий параллельно в трибе *Euopsini*), выраженная постнотальная перетяжка и отсутствие стилей в составе яйцеклада у всех видов.

Далее, от ствола ответвляется триба *Attelabini* (ИП = 10). Говорить о непосредственном происхождении ее от *Hybolabini* не приходится, поскольку у нее хорошо развиты стили яйцеклада и сближает ее с последней в основном ряд параллелизмов. Вероятнее всего данная триба возникла от какой-либо вымершей группы, близкой к *Euscelini*. Наиболее важная апоморфия этой группы – асимметричное вооружение эндофаллуса. Высокий уровень сходства у *Attelabini* с трибами *Lagenoderini* и *Euscelophilini* дает основания предполагать их близкую связь.

К одной из наиболее продвинутых триб подсемейства *Attelabinae* можно отнести трибу *Lagenoderini* – небольшую, но очень разнородную группу с высокой изменчивостью признаков: так, например, зубцов на подбородке бывает 3 у примитивных и 1 у продвинутых представителей. Наибольшее сходство наблюдается с трибой *Euscelophilini*.

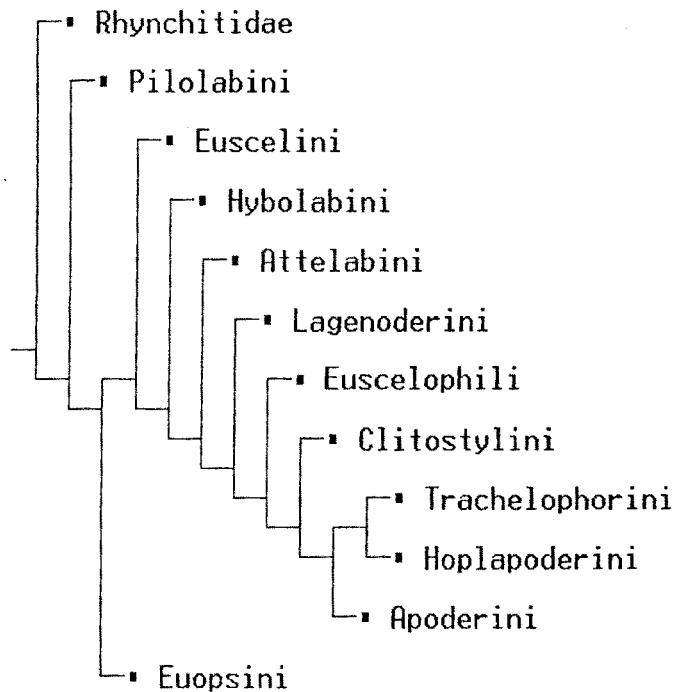


Рис. 2. Филогения семейства Attelabidae

Особое положение в системе аттелабид занимает триба Euscelophilini, самая продвинутая в подсемействе Attelabinae (ИП = 13). Особый интерес представляет ее сходство с Apoderinae. Она объединяется этим с подсемейством по следующим апоморфиям: виски сужаются к шее (хотя бы у высших форм), пронотальная перетяжка выражена, а вооружение эндофаллуса асимметрично.

Наиболее примитивной и исходной группой в Apoderinae, следует считать трибу Clitostyliini (ИП = 22), поскольку у последней имеется такой важный плезиоморфный признак, как наличие зубцов на бедрах (хотя бы у примитивных представителей), сближающие Clitostyliini с подсемейством Attelabinae. Исходя из особенностей строения данной трибы, можно предположить, что от примитивных Clitostyliini, произошли остальные трибы подсемейства Apoderinae, а именно, сестринские Hoplapoderini (+ Trachelophorini) и Apoderini.

Триба Hoplapoderini (ИП = 23) распространена так же широко, как Clitostyliini, что подтверждает их более раннее возникновение по сравнению с Trachelophorini и Apoderini. Важнейшая аутапоморфия этой трибы – расположение наибольшей высоты головы у ее основания.

От подтрибы Paratomapoderina на Мадагаскаре образовалась эндемичная триба Trachelophorini (ИП = 22). Ранее считалось, что помимо Мадагаскара ее представители распространены в Азии. Детальное изучение строения позволило установить, что сходство мадагаскарских и азиатских родов объясняется параллелизмами. Аутапоморфией трибы Trachelophorini является строение резкой у обоих полов пронотальной перетяжки.

Наиболее разнообразна триба Apoderini, обладающая наивысшим ИП (25) и характеризующаяся несколькими аутапоморфиями: пронотальной перетяжкой центрокориноидного типа, имеющимися у большинства видов лопастями на первом вентрите и почти прямыми боками переднеспинки.

На основе проведенного анализа можно сделать вывод, что Attelabidae – довольно молодое семейство, вероятно, произошедшее от белидообразных форм в палеогене в результате изменения образа жизни, а именно, перехода к сворачиванию листьев. Оно подразделяется на два хорошо обособленных подсемейства - Attelabinae и Apoderinae, из которых последнее характеризуется наибольшим количеством апоморфий. В филогении трубкавертов наиболее важным является поочередное ответвление триб от главного ствола, что показывает их обособленность друг от друга и последовательное приобретение апоморфий.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ХРОМОСОМНЫЙ ПЭЙНТИНГ СЕМЕЙСТВА СКУНСОВ (MEPHITIDAE)

П. Л. Перельман, Н. А. Сердюкова, А. С. Графодатский

Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск

Из 18 отрядов млекопитающих на сегодняшний день наиболее тщательно исследованным с помощью метода хромосомного пэинтинга является отряд хищных. Изучены кариотипические отношения между основными семействами (кошачьих, виверровых, гиеновых, медвежьих, собачьих, куницеобразных), а также описана кариотипическая эволюция внутри некоторых семейств (Murphy et al., 2001). И все же из более 280 видов хищных в исследование с помощью сравнительного хромосомного пэинтинга пока вовлечено лишь около 30. На данный момент самым интересным и совершенно не изученным феноменом в отряде являются кариотипические отношения скунсов. Скунсов часто выделяют в отдельное подсемейство Mephitinae в составе семейства куницеобразных Mustelidae (MSW). Все немногочисленные попытки сравнения с помощью традиционного метода сравнительного анализа дифференциально-окрашенных хромосом не дали результата и привели к выводу, что, возможно, геном скунсов в значительной степени перестроен, что делает невозможным идентификацию гомологичных участков, только на основе бэндинга (Графодатский и др., 1989). Нужно отметить, что остальные члены семейства куницеобразных характеризуются значительным консерватизмом кариотипов и сохраняют предковую структуру кариотипа в практически неизменном виде (Graphodatsky et al., 2002). Для того, чтобы описать кариотипические отношения скунсов мы применили метод сравнительного хромосомного пэинтинга, который дает возможность однозначно описать эволюцию генома на уровне хромосом. Хромосомный набор каменной куницы (*Martes foina*) – представителя семейства Mustelidae (подсемейство Mustelinae) полностью соответствует предковому кариотипу мустелоидной ветви хищных (Nie et al., 2002). Пэинтинг-пробы хромосом каменной куницы мы локализовали на хромосомах представителей всех современных родов скунсов.

Пэинтинг-пробы сортированных хромосом, полученные с помощью DOP-ПЦР-амплификации суммарной ДНК каждой отдельной хромосомы набора и меченные биотином, гибридизовали в условиях гетерологичной флуоресцентной *in situ* гибридизации с ДНК метафазных хромосом, предварительно GTG-окрашенных и сфотографированных. Результаты локализации анализировали на флуоресцентном микроскопе и обрабатывали с помощью программы PSP (Jasc Software). Библиотеки сортированных хромосом каменной куницы предоставлены Центром ветеринарной медицины кэмбриджского университета. Суспензии хромосом скунсов и енота любезно предоставлены Дж. Драго (Университет Нью-Мехико) и Р. Стэнином (Национальный институт рака, США). Локализацию пэинтинг-проб проводили на основе анализа дифференциальной исчерченности хромосом. Для каждого вида описывали кариотип с помощью G-, C- и рутинной окраски. Также для всех видов была проведена флуоресцентная *ins situ* гибридизация теломерного зонда и зонда рибосомной ДНК.

В подсемействе Mephitinae выделяют три рода: *Conepatus* (свиноносых скунсов), *Spilogale* (пятнистых скунсов) и *Mephitis* (полостатых скунсов). Мы исследовали представителей всех родов: *Mephitis mephitis* (полосатый скунс, $2n=50$), *Mephitis macroura* (мексиканский скунс, $2n=50$), *Conepatus leuconotus* (восточномексиканский скунс, $2n=46$) и *Spilogale putorius* (пятнистый скунс, $2n=60$). Кариотипы мексиканского, восточномексиканского и пятнистого скунсов впервые описаны в настоящей работе с помощью дифференциальных окрасок хромосом. Кариотипы полосатого и мексиканского скунсов характеризуются наличием крупных добавочных блоков гетерохроматина на трех парах аутосом. На хромосомах восточномексиканского и пятнистого скунсов в результате C-окрашивания были выявлены блоки прицентромерного гетерохроматина.

В ходе анализа локализации пэинтинг-проб каменной куницы было выявлено различное число консервативных хромосомных сегментов в геномах исследованных видов. В целом число