

УДК 576.316.345:599.323.4

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ FISH-АНАЛИЗ С-ПОЗИТИВНЫХ БЛОКОВ ПРИЦЕНТРОМЕРНЫХ РАЙОНОВ ХРОМОСОМ МАЛЫХ ЛЕСНЫХ МЫШЕЙ *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae)

© 2010 г. Т. В. Карамышева¹, А. С. Богданов², И. В. Картавцева³, Т. В. Лихошвай⁴, М. Н. Бочкарёв¹, Н. Е. Колчева⁵, В. В. Марочкина⁶, Н. Б. Рубцов^{1,4}

¹Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск 630090;
e-mail: kary@bionet.nsc.ru

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва 119334;
e-mail: cytogen-idb@yandex.ru

³Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022;
e-mail: irina-kar52@rambler.ru

⁴Новосибирский государственный университет, кафедра цитологии и генетики, Новосибирск 630090

⁵Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург 620144;
e-mail: kolcheva@ipae.uran.ru

⁶Амударьинский заповедник, Сейди 746222;
e-mail: northwind65@rambler.ru

Поступила в редакцию 02.07.2009 г.

Проведен сравнительный анализ состава и гомологии ДНК прицентромерного гетерохроматина у представителей азиатской расы и двух хромосомных форм (восточно-европейской, южно-европейской) европейской расы малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* посредством *in situ* гибридизации с метафазными хромосомами микродиссекционных ДНК-проб, полученных из прицентромерных С-блоков особей южно-европейской хромосомной формы и азиатской расы. При одновременной гибридизации обеих ДНК-проб были выявлены все возможные варианты прицентромерных районов по наличию в них повторяющихся последовательностей, гомологичных таковым того или другого района диссекции, что говорит о существовании разнообразия прицентромерных районов по составу их ДНК. Тем не менее преимущественно вариации FISH-паттернов связаны, по-видимому, с количественными различиями повторяющихся элементов генома. При использовании ДНК-пробы, полученной из хромосом малой лесной мыши южно-европейской хромосомной формы, установлено, что у особей европейской расы, которая характеризуется высоким содержанием в кариотипе прицентромерного С-гетерохроматина, число интенсивных FISH-сигналов примерно соответствует количеству крупных С-сегментов. Однако интенсивные сигналы были зарегистрированы при гибридизации этой же пробы с хромосомами экземпляров азиатской расы, не имеющей в кариотипе крупных С-блоков; таким образом, последовательности ДНК, гомологичные гетерохроматическим, присутствуют у нее также и в негетерохроматических районах, прилежащих к С-сегментам. Несмотря на вариации числа как интенсивных, так и слабых FISH-сигналов, все хромосомные формы/расы *S. uralensis* достоверно отличаются друг от друга по данным признакам. Выборки малых лесных мышей из Восточного Туркменистана (хребет Кугитанг) и с юга Омской области (окр. ж/д станции Талапкер) характеризовались промежуточным количеством интенсивных FISH-сигналов в сравнении с таковым у европейской и азиатской рас, что, по-видимому, связано с гибридным происхождением этих популяций (давним в первом случае и современным — во втором).

Общепризнанно, что С-позитивные сегменты хромосом являются наиболее эволюционно лабильными элементами кариотипа. Они часто принимают участие в рекомбинации базовых групп сцепления, а также во внутри- и межхромосомных перестройках [1, 2]. В последнее время появилось достаточно много сведений о неоднородности и высокой изменчивости гетерохроматина не только у близкородственных видов, но и в пределах одного вида [1–10]. Тем не менее до сих пор нет отчетливых представлений о том, как

происходит эволюция данной части генома и какова ее роль в формировании внутривидового разнообразия и в видообразовании.

Для изучения преобразований С-позитивных сегментов хромосом на стадии внутривидовой дифференциации мы выбрали в качестве модели малую лесную мышь *Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811. Этот вид распространен в Западной и Центральной Палеарктике от Восточной Австрии до Алтая, Тянь-Шаня, Памиро-Алая [11–14]. При

стабильном количестве хромосом и постоянстве их морфологии ($2n = NF = 48$) малая лесная мышь характеризуется широкой изменчивостью гетерохроматической части генома [4–6, 15, 16]. Следует отметить, что помимо гетерохроматина *S. uralensis* гетерогенен по ряду других генетических признаков, и в отношении количества выделяемых в рамках этого вида форм и их таксономического статуса было высказано несколько противоречивых суждений [4–6, 15–29].

В одной из работ были описаны три хромосомные формы малой лесной мыши, названные в примерном соответствии с их географическим распространением восточно-европейской, южно-европейской и азиатской [5]. Позже оказалось, что азиатская хромосомная форма отличается от двух других не только по кариотипическим, но и по многим другим генетическим признакам, поэтому ее было предложено рассматривать в качестве отдельной расы. В состав “альтернативной” расы – европейской – были включены близкие восточно-европейская и южно-европейская хромосомные формы [23, 24]. Данная схема дифференциации *S. uralensis* впоследствии получила подтверждение результатами нескольких молекулярно-генетических исследований [27–29].

Восточно-европейская хромосомная форма, характеризующаяся максимальным количеством прицентромерного гетерохроматина в кариотипе (не менее 28 хромосом имеют крупные С-блоки), населяет Центральную-Черноземную и Нечерноземную регионы России, Крымский полуостров, Среднее Поволжье, Средний и Южный Урал, Зауралье и южные территории Западной Сибири до реки Иртыш. У южно-европейской хромосомной формы, распространение которой охватывает Кавказ, Закавказье, Карпаты и Балканский полуостров, содержание прицентромерного гетерохроматина в кариотипе несколько ниже – крупные С-сегменты регулярно выявляются лишь у 7–9 самых крупных пар хромосом. Азиатская раса, описанная по материалу из восточных областей Казахстана, из Узбекистана и Восточного Туркменистана, отличается полным отсутствием крупных прицентромерных С-блоков; диффузные мелкие и иногда – средние по размеру прицентромерные гетерохроматические сегменты выявляются весьма нерегулярно у 11–27 хромосом. По числу и размерам теломерных С-блоков, которые имеются у 5–6 средних и мелких пар хромосом, различия между хромосомными формами/расами малой лесной мыши не отмечены [5, 24, 30].

На юге Омской области обнаружена зона гибридизации восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы: в кариотипах особей *S. uralensis* из окрестностей ж/д станции Талапкер

Нововаршавского района выявлено от трех до восьми хромосом с крупными прицентромерными С-блоками, что позволяет диагностировать этих животных как отдаленных гибридов, имеющих большее сходство с азиатской расой [31]. Кроме того, посредством inter-MIR-PCR-анализа установлена давняя (возможно, времени климатического оптимума голоцена) и непродолжительная связь последней с южно-европейской хромосомной формой: у малых лесных мышей из Восточного Туркменистана и Узбекистана выявлено несколько inter-MIR-фрагментов ДНК, высоко специфичных для европейской расы [28].

Отчетливая корреляция между содержанием прицентромерного гетерохроматина в кариотипе и размером ядерного генома у разных хромосомных форм/рас малой лесной мыши указывает на то, что изменчивость размеров прицентромерных С-блоков у *S. uralensis* сопряжена, главным образом, с элиминацией (или, наоборот, наращиванием) генетически инертного материала хромосом [24]. Тем не менее этот вывод требует дополнительного подтверждения. Кроме того, наряду с количественными вариациями гетерохроматина возможны и его качественные изменения (накопление мутаций, внедрение и амплификация иных последовательностей ДНК и т.п.). Для решения этих проблем необходимо применение более чувствительных методов, допускающих сравнительный анализ состава ДНК С-позитивных районов хромосом. Одним из возможных подходов является перекрестная флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), открывающая принципиально новые возможности для изучения организации индивидуальных хромосомных районов, их эволюции и механизмов возникновения различий между геномами при формировании внутривидовых форм и видов.

Цель настоящей работы – исследование изменчивости гетерохроматических блоков прицентромерных хромосомных районов, а также оценка степени гомологии составляющих их последовательностей ДНК у всех хромосомных форм/рас *S. uralensis*. Для этого из прицентромерных С-позитивных районов хромосом малых лесных мышей разных хромосомных форм/рас были получены микродиссекционные ДНК-пробы и затем был проведен сравнительный анализ их гибридизации *in situ*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В общей сложности исследовано 76 особей *S. uralensis*, в том числе 36 экземпляров восточно-европейской хромосомной формы, 9 – южно-европейской хромосомной формы, 28 – азиатской расы и 3 отдаленных гибрида восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы. Места отлова животных перечислены ниже, а также

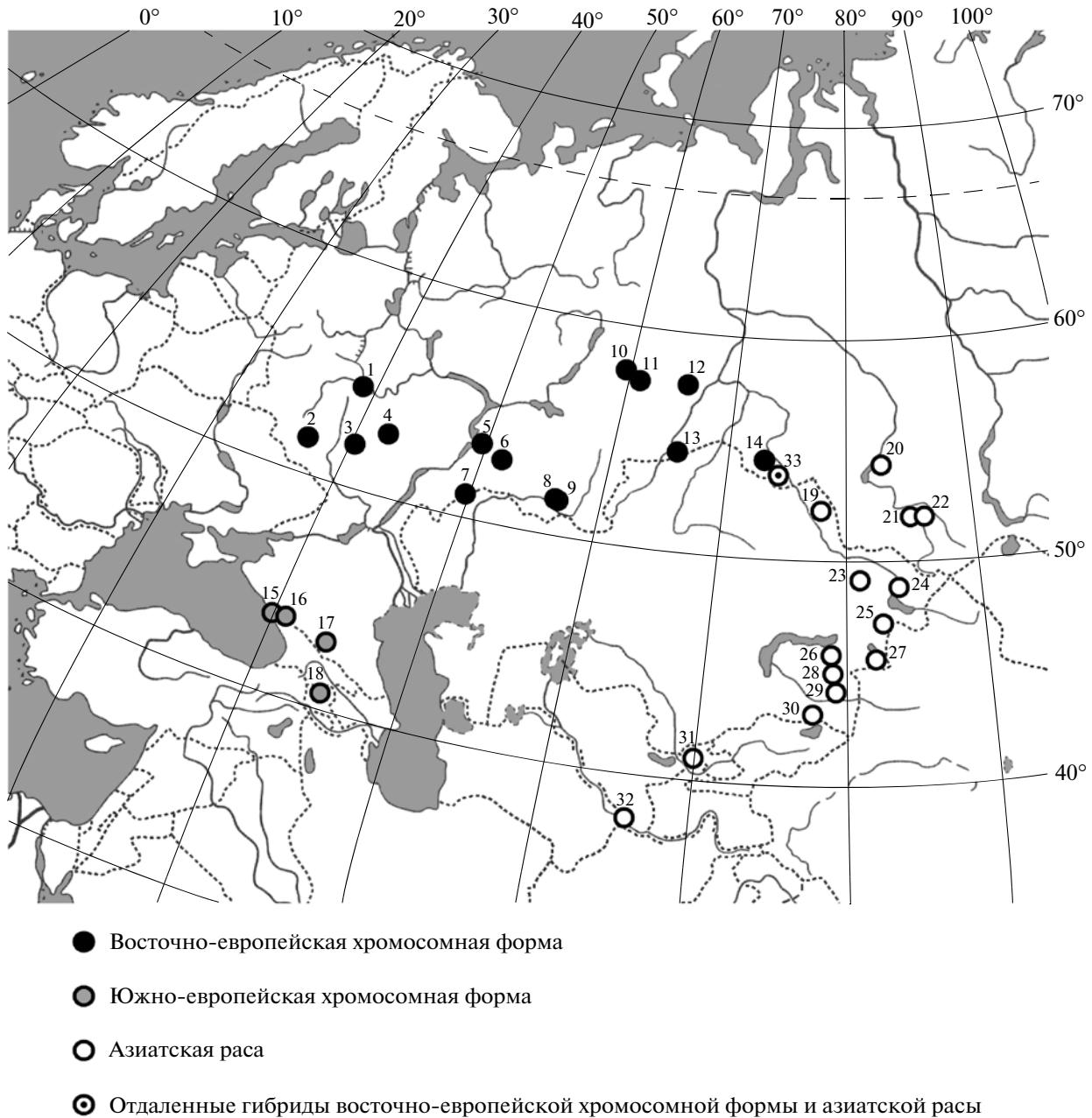


Рис. 1. Пункты отлова малых лесных мышей (нумерацию локалитетов см. в главе “Материалы и методы”).

отображены на рис. 1. Диагностика всех малых лесных мышей была предварительно выполнена посредством С-окрашивания хромосом.

Европейская раса, восточно-европейская хромосомная форма. 1. Россия, Московская обл., Зарайский р-н, окр. г. Зарайск (3 экз.). 2. Россия, Курская обл., Курский р-н, Центрально-Черноземный заповедник (1 экз.). 3. Россия, Тамбовская обл., Мордовский р-н, окр. пос. Мордово (2 экз.). 4. Россия, Пензенская обл., Белинский р-н, окр. пос. Ширяево (1 экз.). Россия, Самарская обл.: 5. Ставропольский р-н, окр. пос. Бахилова Поля-

на, Жигулевский заповедник (1 экз.); 6. Борский р-н, окр. пос. Герасимовка и Гостевка (4 экз.). 7. Россия, Саратовская обл., Озинский р-н, окр. пос. Модин (2 экз.). Россия, Оренбургская обл., Кувандыкский р-н: 8. окр. пос. Канчерово (5 экз.); 9. окр. пос. Бурангулово и Мухамедьярово (2 экз.). Россия, Свердловская обл.: 10. Висимский заповедник (4 экз.); 11. окр. г. Екатеринбург (5 экз.); 12. Тугулымский р-н, окр. пос. Галашова (2 экз.). 13. Россия, Курганская обл., Половинский р-н, окр. ж/д станции Зауралье и пос. Половинное (2 экз.).

14. Россия, Омская обл., Таврический р-н, окр. ж/д станции Амре (2 экз.).

Европейская раса, южно-европейская хромосомная форма. Россия, Краснодарский край, территория, подчиненная г. Сочи: 15. окраина г. Хоста (1 экз.); 16. 5 км к северо-востоку от пос. Красная Поляна, Кавказский заповедник (2 экз.). 17. Россия, Кабардино-Балкария, окраина г. Нальчик (4 экз.). 18. Армения, окр. пос. Лермонтово (2 экз.).

Азиатская раса. 19. Казахстан, Павлодарская обл., Павлодарский р-н, 8 км к юго-востоку от пос. Розовка (1 экз.). 20. Россия, окраина г. Новосибирск в нескольких километрах от г. Бердск (6 экз.). 21. Россия, Алтайский край, Смоленский р-н, пойма р. Белокуриха (2 экз.). 22. Россия, Республика Алтай, северо-западная окраина г. Горно-Алтайск (2 экз.). Казахстан, Восточно-Казахстанская обл.: 23. Жарминский р-н, окр. пос. Каратубе, Калбинский хребет, горы Каратубе (1 экз.); 24. Курчумский р-н, около 15 км к северо-востоку от пос. Куйган, отроги Нарымского хребта (1 экз.); 25. Тарбагатайский р-н, около 30 км к юго-западу от пос. Аксуат, хребет Тарбагатай, пойма р. Карабуга (2 экз.). Казахстан, Алматинская обл.: 26. Аксуйский р-н, 33 км от пос. Матай в сторону пос. Кураксу, пойма р. Аксу (1 экз.); 27. Алакольский р-н, окр. пос. Бибакан, пойма р. Орта-Тентек (1 экз.); 28. Кербулакский р-н, около 10 км к северо-востоку от пос. Рудничный, Джунгарский Алатау (2 экз.); 29. Кербулакский р-н, хребет Алтынэмель, перевал Алтынэмель (1 экз.); 30. г. Алма-Ата (2 экз.). 31. Узбекистан, Ташкентская обл., Кураминский хребет, долина р. Ангрэн в 35 км выше по течению от г. Ангрэн (1 экз.). 32. Туркменистан, Лебапский велаят, хребет Кугитанг, гора Айрыбаба и прилегающие территории: ущелье Дарай-Дара, окр. пос. Свинцовый Рудник; ущелье Кырккыз, окр. пос. Ходжайпиль (5 экз.).

Отдаленные гибриды восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы. 33. Россия, Омская обл., Нововаршавский р-н, окр. ж/д станции Талапкер (3 экз.).

Приготовление препаратов метафазных хромосом и анализ гетерохроматических районов

Препараты готовили из костного мозга бедренных костей животных по общепринятой методике [32]. С- и Q-дифференциальное окрашивание метафазных хромосом для анализа гетерохроматических районов выполняли красителями Гимза и DAPI (4,6-диамидино-2-фенилиндол; "Sigma", Германия) соответственно [33].

Получение ДНК-проб из прицентромерных С-позитивных районов хромосом S. uralensis

Препараты метафазных хромосом для микродиссекции получали согласно ранее опублико-

ванному методу [34]. Микродиссекцию хромосом проводили на инвертированном микроскопе Axiovert 10 (объектив 40×, "Zeiss", Германия), используя оттянутую стеклянную иглу, контролируемую микроманипулятором MR ("Zeiss", Германия). Выделение ДНК из С-блоков, ее амплификацию в ПЦР с частично вырожденным праймером (ДОП-ПЦР) и мечение выполняли согласно стандартному протоколу [35]. Полученные таким образом ДНК-библиотеки представляют собой наборы фланкированных MW6-праймером фрагментов ДНК размером от 200 до 1000 пар оснований [36]. Мечение фрагментов ДНК проводили в 15 дополнительных циклах ПЦР [35, 37].

FISH и микроскопия хромосомных препаратов

Препараты метафазных хромосом для FISH получали, раскапывая суспензию фиксированных клеток на поверхность чистых, холодных и влажных предметных стекол. После высыхания препараты дважды промывали холодным фиксатором (метанол : ледяная уксусная кислота – 3 : 1) и окончательно высушивали на термостойке (50°C). Перед проведением FISH препараты метафазных хромосом выдерживали четверо суток в вакуумной камере.

Гибридизацию *in situ* ДНК-проб с метафазными хромосомами проводили согласно стандартному протоколу [38]. Цитологические препараты обрабатывали РНКазой А (100 мкг/мл), инкубировали в 0.02%-ном растворе пепсина и дегидратировали в серии спиртов возрастающей концентрации; затем наносили на препарат под покровное стекло растворенные в гибридизационной смеси ДНК-пробы и проводили их совместную денатурацию с ДНК метафазных хромосом.

ДНК-пробы, меченные биотином и дигоксигенином, детектировали с помощью авидин-Alexa488 ("Invitrogen") и специфичных к дигоксигенину мышинных антител, конъюгированных с Су3 ("Jackson ImmunoResearch"), соответственно.

После гибридизации *in situ* общее окрашивание метафазных хромосом проводили красителем DAPI. Хромосомы и их отдельные районы идентифицировали, используя инвертированный DAPI-бэндинг. Оценку и регистрацию результатов FISH выполняли в Центре коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН (ИЦиГ СО РАН, г. Новосибирск) на люминесцентном микроскопе AxioPlan 2 Imaging ("Zeiss", Германия), используя CCD-камеру Pico, систему фильтров CHROMA и программное обеспечение ISIS4 фирмы "METASystems GmbH" (Германия).

Для определения достоверности различий по количеству сигналов между хромосомными фор-

мами и расами *S. uralensis* был применен двусторонний *t*-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Микродиссекционные ДНК-пробы

Посредством микродиссекции метафазных хромосом и последующей ДОП-ПЦР было получено две ДНК-пробы — из прицентромерного С-позитивного района одной из крупных хромосом малой лесной мыши из окр. пос. Рудничный Алматинской обл. Казахстана (азиатская раса) и из прицентромерного С-позитивного района одной из крупных хромосом особи из г. Нальчик (южно-европейская хромосомная форма). Район диссекции и ДНК-проба от экземпляра азиатской расы были обозначены как Sur3, а от особи южно-европейской хромосомной формы — как Sur5.

Результат гибридизации ДНК-пробы Sur5 с метафазными хромосомами животного, от которого она была получена, представлен на рис. 2,а. Крупный (интенсивный и протяженный) FISH-сигнал был выявлен не только в районе диссекции, но и в прицентромерных С-позитивных районах 16 крупных и средних аутосом, а также X- и Y-хромосом. Кроме того, у 16 других хромосом среднего и мелкого размера в прицентромерных районах были отмечены небольшие, точечные сигналы.

Результат гибридизации ДНК-пробы Sur3 с метафазными хромосомами экземпляра, от которого она была получена, представлен на рис. 2,б (см. цв. вкл.). FISH-сигналы в данном случае также были выявлены только в прицентромерных районах хромосом (интенсивные и протяженные сигналы — у 14 крупных и средних аутосом, а небольшие, точечные — у шести аутосом, X- и Y-хромосом).

Следует отметить, что С-позитивный район, диссектированный из хромосомы малой лесной мыши азиатской расы, значительно уступал по размеру использованному для получения пробы Sur5 С-сегменту от особи южно-европейской хромосомной формы. Вследствие этого микродиссекционная проба Sur3 была менее эффективна и требовала значительного увеличения времени накопления сигнала при его регистрации. При проведении двухцветной FISH одновременно с обеими пробами было отмечено резкое снижение интенсивности сигнала от пробы Sur3 в большинстве прицентромерных районов. Это, очевидно, связано с конкурентной гибридизацией ДНК-проб с одними и теми же последовательностями ДНК прицентромерных районов и с явным количественным преобладанием гомологичных фрагментов ДНК в пробе Sur5 (рис. 3, см. цв. вкл.).

Типы С-позитивных прицентромерных районов, выявляемые ДНК-пробами Sur3 и Sur5

Результаты отдельной и двухцветной *in situ* гибридизации ДНК-проб Sur3 и Sur5 указывают на существование в кариотипе *S. uralensis* трех вариантов прицентромерных районов, которые значительно отличаются по содержанию повторных последовательностей ДНК, характерных для районов Sur3 и Sur5: первый вариант содержит ДНК, гомологичную, как минимум, части ДНК из каждого района (Sur3+/Sur5+); второй содержит ДНК, гомологичную ДНК района Sur3, но не Sur5 (Sur3+/Sur5-); третий — ДНК, гомологичную ДНК района Sur5, но не Sur3 (Sur3-/Sur5+). При двухцветной *in situ* гибридизации ДНК-проб Sur3 и Sur5 наблюдалась почти полная супрессия сигнала от ДНК-пробы Sur3, при отдельной гибридизации выявляемого в большинстве прицентромерных районов. Эти районы были также отнесены нами к варианту Sur3+/Sur5+.

При двухцветной FISH интенсивный сигнал от ДНК-пробы Sur3 был зарегистрирован в прицентромерных районах только двух пар хромосом — одной малой и одной крупной (рис. 3). В малых аутосомах он частично перекрывался с очень слабым сигналом от ДНК-пробы Sur5. В крупных аутосомах район Sur3+/Sur5- прилегал к небольшому району Sur3-/Sur5+, расположенному более проксимально. Оба эти района Sur3+/Sur5- (и малой, и крупной хромосомных пар) были отмечены у малых лесных мышей всех хромосомных форм/рас.

Несмотря на два дополнительных крупных сигнала, выявляемых посредством ДНК-пробы Sur3 и не обнаруживаемых с помощью ДНК-пробы Sur5, общее число интенсивных сигналов, полученных при использовании последней, оказалось больше. Эти результаты указывают на существование районов Sur3-/Sur5+. Локализация районов Sur3-/Sur5+ оказалась крайне трудоемкой, так как требовала полной идентификации всех хромосом после выполнения отдельной FISH с той или другой пробой. Такое исследование для всех животных не предпринималось. Был проведен анализ присутствия в хромосомах малых лесных мышей из разных популяций районов Sur3+/Sur5-, а также суммарно районов Sur3+/Sur5+ и Sur3-/Sur5+.

FISH-сигналы, полученные с использованием пробы Sur5

У особей всех хромосомных форм/рас *S. uralensis* FISH-сигналы, как крупные, так и мелкие, всегда имели прицентромерную локализацию. Они ни разу не были отмечены ни в интеркалярных, ни в теломерных районах хромосом, в том числе — С-позитивных. Таким образом, теломерные

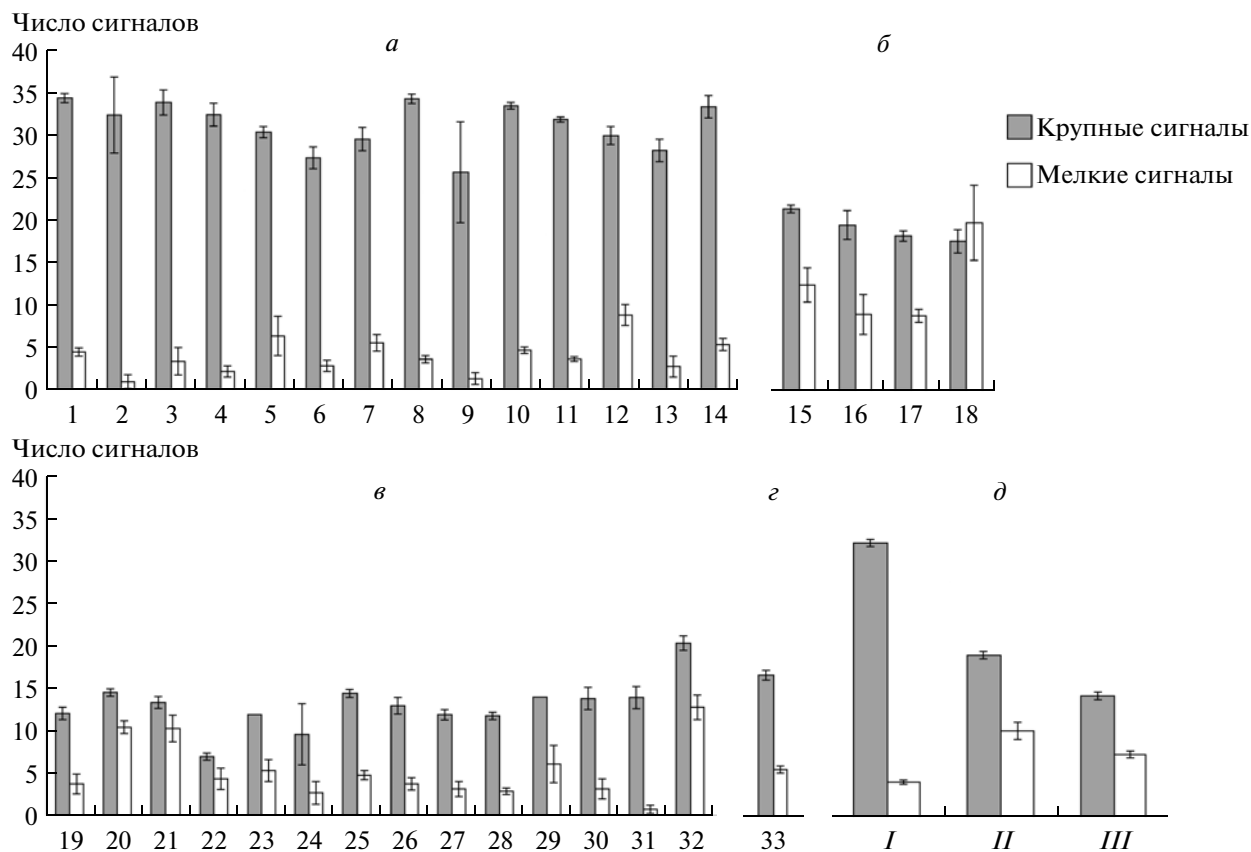


Рис. 5. Изменчивость числа интенсивных и слабых FISH-сигналов, полученных при использовании пробы Sur5, в кариотипах малых лесных мышей выборок восточно-европейской хромосомной формы (а), южно-европейской хромосомной формы (б), азиатской расы (в) и отдаленных гибридов восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы (г). Также представлены данные по всем популяционным группам в целом (д: I – восточно-европейская хромосомная форма, II – южно-европейская хромосомная форма, III – азиатская раса). Нумерацию выборок см. в главе “Материалы и методы”.

C-блоки у малых лесных мышей не содержат гомологичной ДНК, которая была использована для создания пробы Sur5. По-видимому, теломерные и прицентромерные C-сегменты у малых лесных мышей состоят из разных повторенных последовательностей.

Количество интенсивных и слабых сигналов, полученных при *in situ* гибридизации ДНК-пробы Sur5 с метафазными хромосомами малых лесных мышей из разных популяций, представлено в табл. 1 и на рис. 4 (см. цв. вкл.), 5. Следует отметить, что подсчет числа районов с точечными сигналами представлял собой более сложную задачу. Часть таких районов могла быть не выявлена из-за недостаточной чувствительности метода.

В кариотипах особей восточно-европейской и южно-европейской хромосомных форм количество интенсивных сигналов на метафазную пластинку, выявляемых пробой Sur5, было близким числу крупных прицентромерных C-блоков. Однако на некоторых хромосомах экземпляров азиатской расы также были отмечены интенсивные и

протяженные FISH-сигналы, сопоставимые с таковыми у европейской расы. Поскольку в кариотипах малых лесных мышей азиатской расы крупные прицентромерные гетерохроматические блоки отсутствуют, очевидно, что в данном случае величина FISH-сигналов заметно превышает размер соответствующих C-сегментов. Это указывает на наличие у особей азиатской расы кластеров повторенных последовательностей, гомологичных ДНК пробы Sur5, в прилежащих к прицентромерному гетерохроматину C-негативных районах.

Хотя количество интенсивных FISH-сигналов у *S. uralensis* характеризовалось значительной популяционной изменчивостью и в некоторых случаях существенно отличалось даже у животных из соседних пунктов (см. данные по экземплярам из Кувандыкского р-на Оренбургской обл.), диапазоны вариации данного признака и его средние значения у хромосомных форм/рас заметно расходятся (табл. 1; рис. 5, 6, см. цв. вкл.).

Таблица 1. Количество крупных и мелких FISH-сигналов, полученных при использовании ДНК-пробы Sur5, в кариотипах малых лесных мышей из разных мест отлова

Пункты отлова	Число метафазных пластинок	Количество FISH-сигналов (интервал изменчивости в выборке; среднее значение \pm ошибка)	
		Крупные сигналы	Мелкие сигналы
Европейская раса, восточно-европейская хромосомная форма			
1	35	31–39; 34.49 \pm 0.60	2–7; 4.40 \pm 0.48
2	7	21–38; 32.43 \pm 4.48	0–2; 0.86 \pm 0.79
3	11	29–37; 34.00 \pm 1.50	0–9; 3.27 \pm 1.67
4	11	28–36; 32.36 \pm 1.48	0–4; 2.09 \pm 0.67
5	3	30–31; 30.33 \pm 0.65	4–8; 6.33 \pm 2.36
6	37	16–31; 27.24 \pm 1.27	0–8; 2.73 \pm 0.72
7	8	27–32; 29.50 \pm 1.39	3–8; 5.50 \pm 1.05
8	59	26–40; 34.36 \pm 0.59	0–9; 3.54 \pm 0.47
9	5	19–33; 25.60 \pm 5.93	0–2; 1.20 \pm 0.73
10	69	28–37; 33.57 \pm 0.40	2–8; 4.75 \pm 0.35
11	89	27–35; 31.80 \pm 0.38	0–8; 3.54 \pm 0.35
12	20	24–34; 30.00 \pm 1.08	2–15; 8.85 \pm 1.27
13	11	25–32; 28.18 \pm 1.34	0–6; 2.73 \pm 1.21
14	18	28–37; 33.44 \pm 1.29	2–8; 5.33 \pm 0.73
Значения по всей группе	383	16–40; 32.15 \pm 0.34	0–15; 4.03 \pm 0.23
Европейская раса, южно-европейская хромосомная форма			
15	27	18–23; 21.52 \pm 0.44	2–22; 12.41 \pm 2.19
16	9	15–23; 19.67 \pm 1.73	4–15; 8.89 \pm 2.52
17	95	9–28; 18.34 \pm 0.59	0–20; 8.73 \pm 0.80
18	9	16–22; 17.78 \pm 1.30	4–28; 20.00 \pm 4.49
Значения по всей группе	140	9–28; 19.00 \pm 0.48	0–28; 10.17 \pm 0.9
Азиатская раса			
19	11	10–14; 12.09 \pm 0.72	0–8; 3.64 \pm 1.27
20	105	10–20; 14.60 \pm 0.42	0–19; 10.54 \pm 0.75
21	19	10–16; 13.47 \pm 0.68	4–19; 10.42 \pm 1.63
22	27	4–10; 6.93 \pm 0.48	0–12; 4.33 \pm 1.25
23	3	12–12; 12.00 \pm 0.00	4–6; 5.33 \pm 1.31
24	3	6–12; 9.67 \pm 3.64	2–4; 2.67 \pm 1.31
25	53	8–18; 14.43 \pm 0.51	0–8; 4.75 \pm 0.50
26	16	9–16; 13.06 \pm 0.92	2–7; 3.69 \pm 0.69
27	12	11–15; 11.92 \pm 0.66	0–4; 3.17 \pm 0.76
28	65	7–16; 11.85 \pm 0.45	0–6; 2.82 \pm 0.37
29	3	14–14; 14.00 \pm 0.00	4–8; 6.00 \pm 2.26
30	12	9–18; 13.83 \pm 1.44	0–8; 3.08 \pm 1.17
31	4	13–16; 14.00 \pm 1.39	0–1; 0.75 \pm 0.49
32	68	9–29; 20.49 \pm 0.79	4–26; 12.87 \pm 1.47
Значения по всей группе	401	4–29; 14.26 \pm 0.41	0–26; 7.36 \pm 0.53
Отдаленные гибриды восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы			
33	62	12–22; 16.69 \pm 0.51	1–11; 5.37 \pm 0.55

Примечание. Нумерацию и объем выборок см. в главе “Материалы и методы”.

Таблица 2. Значения *t*-критерия Стьюдента, полученные при сравнении хромосомных форм/рас *S. uralensis* и выборки отдаленных гибридов по числу крупных FISH-сигналов

	Восточно-европейская хромосомная форма	Южно-европейская хромосомная форма	Азиатская раса
Восточно-европейская хромосомная форма	—		
Южно-европейская хромосомная форма	40.46 (6.3×10^{-163})	—	
Азиатская раса	66.39 (0)	12.68 (1.9×10^{-32})	—
Отдаленные гибриды восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы	34.54 (9.2×10^{-128})	5.66 (5.1×10^{-8})	4.61 (5.3×10^{-6})

Примечание. В скобках дано соответствующее значение вероятности (*p*) идентичности сравниваемых выборок.

Аналогично крупным прицентромерным С-блокам наибольшее число интенсивных FISH-сигналов (16–40, в среднем – 32) наблюдали у особей восточно-европейской хромосомной формы. В выборках южно-европейской хромосомной формы было зарегистрировано меньшее количество крупных FISH-сигналов (18–22, в среднем – 19), а минимальным оно оказалось у азиатской расы (7–20, в среднем – 14) (табл. 1; рис. 4, *a–ж*, 5). Неожиданно большое число интенсивных сигналов, значительно отклоняющееся от такового во всех прочих выборках азиатской расы, было выявлено у особей из Восточного Туркменистана (табл. 1; рис. 4, *з*, 5), несмотря на то что по С-окраске у них не было отмечено каких-либо особенностей как в настоящей работе, так и в предыдущих исследованиях [5, 24]. Наименьшее количество крупных сигналов среди малых лесных мышей азиатской расы наблюдалось у экземпляров с Северного и Южного Алтая – из г. Горно-Алтайск и с Нарымского хребта.

По количеству малых FISH-сигналов различия между хромосомными формами/расами *S. uralensis* менее отчетливы, что отчасти может быть обусловлено техническими проблемами регистрации самых слабых сигналов. Число мелких сигналов у особей восточно-европейской хромосомной формы не превышало десяти (за исключением животных со Среднего Урала) и в среднем оказалось ниже, чем в других популяционных группах (табл. 1; рис. 4–6). Чаще всего и в наибольшем количестве слабые сигналы встречались в кариотипах малых лесных мышей южно-европейской хромосомной формы, особенно – экземпляров из Армении (до 28 сигналов при среднем значении 20 для южно-европейской формы в целом). Для особей почти всех выборок азиатской

расы характерно большее число слабых FISH-сигналов, чем в среднем у восточно-европейской хромосомной формы, но меньшее – чем у южно-европейской. Среди малых лесных мышей азиатской расы несколько выделяются животные из г. Новосибирска, из Алтайского края и Восточного Туркменистана, в кариотипах которых отмечено максимальное для данной популяционной группы количество слабых сигналов.

В кариотипах отдаленных гибридов восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы было выявлено промежуточное число как интенсивных, так и слабых FISH-сигналов. Тем не менее значения обоих показателей были ближе к таковым особей азиатской расы (табл. 1; рис. 4, *и*, 5, 6). Аналогичный результат получен при подсчете хромосом с крупными прицентромерными С-сегментами в кариотипах гибридных особей [31].

Восточно-европейская, южно-европейская хромосомные формы, азиатская раса и выборка отдаленных гибридов достоверно отличаются друг от друга по количеству как интенсивных (табл. 2), так и слабых сигналов (табл. 3) на уровне значимости, не превышающем 0.005.

ОБСУЖДЕНИЕ

In situ гибридизация проб, полученных из прицентромерных С-сегментов, с ДНК метафазных хромосом не дает возможности составить полную детальную характеристику изучаемых районов. Как потеря прежних, так и появление новых повторенных последовательностей могут остаться незамеченными в таких исследованиях. Тем не менее полученные результаты позволяют прове-

Таблица 3. Значения *t*-критерия Стьюдента, полученные при сравнении хромосомных форм/рас *S. uralensis* и выборки отдаленных гибридов по числу слабых FISH-сигналов

	Восточно-европейская хромосомная форма	Южно-европейская хромосомная форма	Азиатская раса
Восточно-европейская хромосомная форма	—		
Южно-европейская хромосомная форма	18.10 (3.8×10^{-57})	—	
Азиатская раса	11.19 (4.5×10^{-27})	5.33 (1.4×10^{-7})	—
Отдаленные гибриды восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы	4.24 (2.8×10^{-5})	6.73 (1.8×10^{-10})	2.88 (0.0041)

Примечание. В скобках дано соответствующее значение вероятности (*p*) идентичности сравниваемых выборок.

сти первичную оценку уровня внутривидового разнообразия ДНК прицентромерных районов хромосом, выполнить ревизию отношений между различными популяциями вида, выяснить особенности эволюции прицентромерных районов хромосом.

В работе при использовании двух микродисекционных ДНК-проб были выявлены все возможные варианты прицентромерных районов по наличию в них повторяющихся последовательностей, гомологичных таковым того или другого района диссекции, что говорит о существовании разнообразия прицентромерных районов по составу их ДНК. Тем не менее преимущественно вариации FISH-паттернов связаны, по-видимому, с количественными различиями повторяющихся элементов генома. В связи с этим особый интерес представляет сравнение числа сигналов на хромосомах особей *S. uralensis* из различных популяций. В результате проведенных исследований установлено, что количество копий гомологичных последовательностей ДНК в прицентромерных районах может значительно отличаться как у разных хромосом одной особи, так и у одних и тех же пар хромосом разных экземпляров. Показана отчетливая зависимость числа крупных FISH-сигналов, выявленных при использовании пробы Sur5, от количества и размеров С-блоков, а также от размера генома: наибольшим числом ярких сигналов характеризуется восточно-европейская хромосомная форма, имеющая самый крупный геном и максимальное количество крупных прицентромерных С-блоков в кариотипе, а наименьшим числом интенсивных сигналов — азиатская

раса, отличающаяся самым маленьким размером генома и отсутствием крупных С-сегментов. Однако обнаружены и исключения, связанные с тем, что кластеры повторенных последовательностей в кариотипах особей азиатской расы могут быть локализованы и за пределами С-блоков, в прилежащих к ним С-негативных районах. Возможно, такие структурные особенности являются промежуточным этапом при формировании крупных С-позитивных прицентромерных районов.

Экземпляры *S. uralensis* с хребта Кугитанг и из окр. станции Талапкер Омской области отличались нетипично высоким для азиатской расы числом интенсивных FISH-сигналов, что, скорее всего, неслучайно. В обеих популяциях обнаружены генетические “следы” европейской расы: в популяции из Восточного Туркменистана — по inter-MIR-фрагментам ядерной ДНК [28], а в популяции из окр. станции Талапкер — по характеру С-окрашивания хромосом [31]. Возможно, что нетипичная FISH-окраска в этих двух случаях обусловлена гибридизацией рас *S. uralensis*, несмотря на то что в Омской области она происходит, по-видимому, в настоящее время, а в Туркменистане была уже довольно давно, поскольку по всем генетическим маркерам, включая и inter-MIR-фрагменты ядерной ДНК, принадлежность малых лесных мышей хребта Кугитанг к азиатской расе несомненна [5, 23, 24, 27–29]. Так как экземпляры из Восточного Туркменистана, в отличие от малых лесных мышей из окр. станции Талапкер, к настоящему времени почти полностью утратили генетический материал европейской расы, обилие интенсивных FISH-сигналов в

их кариотипах представляет особый интерес. Не исключено, что гибридизация могла стимулировать в геномах гибридов амплификацию некоторых прицентромерных последовательностей ДНК и/или внедрение повторов из хромосом, полученных от европейской расы, в хромосомы, происходящие от азиатской расы. Эти процессы, по-видимому, продолжались и после прекращения гибридизации рас, что позволило амплифицированным или интегрированным последовательностям сохраниться в большом количестве в геноме популяции хребта Кугитанг и выдержать множество возвратных скрещиваний с особями азиатской расы в течение долгого времени (по меньшей мере, нескольких тысяч лет). Довольно высокое число слабых FISH-сигналов в кариотипах малых лесных мышей из популяций Новосибирска и Алтайского края, находящихся в нескольких сотнях километров от современной зоны контакта восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы, возможно, также представляет собой “след” их некогда более интенсивной гибридизации на территории Западной Сибири.

Авторы искренне признательны А.А. Власову (Центрально-Черноземный заповедник), В.П. Вехнику (Жигулевский заповедник), Е.И. Жолнеровской (Институт систематики и экологии животных СО РАН), В.И. Ермолаеву (Институт цитологии и генетики СО РАН), С.Б. Поле (Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций), П.А. Тильбе, Б.С. Туниеву (Сочинский национальный парк) и Р.И. Дзюеву (Кабардино-Балкарский государственный университет) за содействие, оказанное при отлове животных, и предоставленную возможность лабораторной обработки материала. Особая благодарность – О.В. Брандлеру (Институт биологии развития РАН) и А.Ю. Пузаченко (Институт географии РАН) за непосредственное участие в подготовке и проведении экспедиций. Часть мышей любезно передана нам И.Ю. Баклушинской (Институт биологии развития РАН) и Ю.М. Ковальской (Институт проблем экологии и эволюции РАН).

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты № 08-04-00063, 08-04-00167 и 08-04-00937), Президиума РАН (программы “Биоразнообразие” и “Динамика генофондов”) и Президиума УрО РАН (программа по интеграционным и междисциплинарным проектам УрО, СО и ДВО РАН).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Прокофьева-Бельговская А.А. Гетерохроматические районы хромосом. М.: Наука, 1986. 431 с.
2. King M. Species evolution: the role of chromosome change. N.Y., Melbourne: Cambr. Univ. Press, 1995. 336 p.
3. Анискин В.М., Лавренченко Л.А., Варшавский А.А., Милюшиников А.Н. Кариотипы и хромосомная дифференциация двух видов рода *Tachyoryctes* (Rodentia, Tachyoryctinae) из Эфиопии // Генетика. 1997. Т. 33. № 9. С. 1266–1272.
4. Челомина Г.Н., Павленко М.В., Картавецова И.В. и др. Генетическая дифференциация лесных мышей Кавказа: сравнение изозимной, хромосомной и молекулярной дивергенции // Генетика. 1998. Т. 34. № 2. С. 213–225.
5. Богданов А.С. Хромосомная дифференциация популяций малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* в восточной части ареала вида // Зоол. журн. 2001. Т. 80. № 3. С. 331–342.
6. Картавецова И.В. Кариосистематика лесных и полевых мышей (Rodentia: Muridae). Владивосток: Дальнаука, 2002. 141 с.
7. Bugrov A.G., Karamysheva T.V., Rubtsov D.N. et al. Comparative FISH analysis of distribution of B chromosome repetitive DNA in A and B chromosomes in two subspecies of *Podisma sapporensis* (Orthoptera, Acrididae) // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 106. P. 284–288.
8. Matsubara K., Nishida-Umehara C., Tsuchiya K. et al. Karyotypic evolution of *Apodemus* (Muridae, Rodentia) inferred from comparative FISH analyses // Chromosome Res. 2004. V. 12. № 4. P. 383–395.
9. Stanyon R., Yang F., Morescalchi A.M., Galleni L. Chromosome painting in the long-tailed field mouse provides insights into the ancestral murid karyotype // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 105. № 2–4. P. 406–411.
10. Paço A., Adegas F., Guedes-Pinto H., Chaves R. Hidden heterochromatin: Characterization in the Rodentia species *Cricetus cricetus*, *Peromyscus eremicus* (Cricetidae) and *Praomys tullbergi* (Muridae) // Genet. Mol. Biol. V. 32. № 1. P. 58–68.
11. Corbet G.B. The mammals of the Palaearctic Region: a taxonomic review. London, Ithaca: Cornell Univ. Press, 1978. 314 p.
12. Musser G.G., Carleton M.D. Family Muridae // Mammal species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference. 2-nd ed. / Eds Wilson D.E., Reeder D.M. Smithsonian Institution, 1993. P. 501–755.
13. Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб., 1995. 522 с.
14. Павлинов И.Я., Яхонтов Е.Л., Агаджанян А.К. Млекопитающие Евразии (систематико-географический справочник). Т. 1. Rodentia. М.: Изд-во МГУ, 1995. 240 с.

15. Орлов В.Н., Козловский А.И., Наджафова Р.С., Булатова Н.Ш. Хромосомные диагнозы и место генетических таксонов в эволюционной классификации лесных мышей подрода *Sylvaemus* Европы (*Apodemus*, Muridae, Rodentia) // Зоол. журн. 1996. Т. 75. Вып. 1. С. 88–102.
16. Orlov V.N., Bulatova N.Sh., Nadjafova R.S., Kozlovsky A.I. Evolutionary classification of European wood mice of the subgenus *Sylvaemus* based on allozyme and chromosome data // Bonner Zoologische Beiträge. 1996. В. 46. Н. 1–4. S. 191–202.
17. Межжерин С.В., Михайленко А.Г. О видовой принадлежности *Apodemus sylvaticus tscherga* (Rodentia, Muridae) Алтая // Вестн. зоологии. 1991. № 3. С. 35–44.
18. Межжерин С.В. Генетические связи и видовая принадлежность лесной мыши (Rodentia, Muridae, *Sylvaemus*) Памиро-Алая // Изв. РАН. Серия биол. 1996. № 1. С. 30–38.
19. Межжерин С.В. Ревизия мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) Северной Евразии // Вестн. зоологии. 1997. Т. 31. № 4. С. 29–41.
20. Mezherin S.V. Biochemical systematics of the Wood mouse, *Sylvaemus sylvaticus* (L., 1758) sensu lato (Rodentia, Muridae) from Eastern Europe and Asia // Z. Säugetierkunde. 1997. В. 62. S. 303–311.
21. Баскевич М.И., Потапов С.Г., Окулова Н.М., Балакирев А.Е. Диагностика мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) из западной части Большого Кавказа в условиях симбиотопии // Зоол. журн. 2004. Т. 83. № 10. С. 1261–1269.
22. Баскевич М.И., Потапов С.Г., Окулова Н.М. и др. Сравнительный анализ сперматозоидов шести видов мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) из Восточной Европы и Закавказья // Зоол. журн. 2004. Т. 83. № 6. С. 725–732.
23. Богданов А.С. Аллозимная изменчивость малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) и оценка уровня дивергенции хромосомных форм этого вида // Генетика. 2004. Т. 40. № 8. С. 1099–1112.
24. Богданов А.С., Розанов Ю.М. Изменчивость размера ядерного генома у малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) // Генетика. 2005. Т. 41. № 10. С. 1369–1376.
25. Илларионова Н.А., Потапов С.Г., Орлов В.Н. ДНК-полиморфизм популяций малых лесных мышей (*Apodemus uralensis*), выявляемый методом РАПД ПЦР // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2005. Т. 110. Вып. 4. С. 78–79.
26. Балакирев А.Е., Баскевич М.И., Гмыль А.П. и др. К вопросу о таксономическом статусе формы *ciscaucasicus* и ее родственных отношениях с малой лесной мышью *Sylvaemus uralensis* по данным секвенирования гена цитохрома b мтДНК // Генетика. 2007. Т. 43. № 12. С. 1651–1666.
27. Челомина Г.Н., Атопкин Д.М., Богданов А.С. Филогенетические связи видов и внутривидовых форм лесных мышей рода *Sylvaemus* по данным частичного секвенирования гена цитохрома b митохондриальной ДНК // ДАН. 2007. Т. 416. № 2. С. 282–285.
28. Богданов А.С., Банникова А.А., Крамеров Д.А. Исследование дифференциации и внутривидовых филогенетических связей у малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* методом inter-MIR-PCR // Современные проблемы биологической эволюции: Материалы конф. М.: Изд-во Гос. Дарвиновского музея, 2007. С. 162–164.
29. Богданов А.С., Атопкин Д.М., Челомина Г.Н. Анализ генетической изменчивости и дифференциации малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) методом RAPD-PCR // Изв. РАН. Серия биол. 2009. № 3. С. 276–292.
30. Богданов А.С., Розанов Ю.М., Якименко В.В., Малькова М.Г. Сведения о распространении рас малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* на территории Зауралья и Западной Сибири // Современные проблемы биологической эволюции: Материалы конф. М.: Изд-во Гос. Дарвиновского музея, 2007. С. 164–165.
31. Богданов А.С., Розанов Ю.М., Якименко В.В., Малькова М.Г. Первые сведения о зоне контакта европейской и азиатской рас малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* и их гибридизации в природе // Фауна, зоогеография и экология животных: Материалы Всерос. конф. Оренбург: Изд-во ОГПУ, 2008. С. 24–28.
32. Ford C.E., Hamerton J.L. A colchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes // Stain Technol. 1956. V. 31. № 6. P. 247–251.
33. Verma R.S., Babu A. Human Chromosomes. Principles and Techniques. N.Y.: McGraw-Hill, 1995. P. 72–74.
34. Human cytogenetics. A practical approach / Eds Rooney D.E., Czepulkowski B.H. Oxford Univ. Press, 1992. V. 1. P. 157–192.
35. Rubtsov N.B., Karamisheva T.V., Astakhova N.M. et al. Zoo-FISH with region-specific paints for mink chromosome 5q: delineation of inter- and intrachromosomal rearrangements in human, pig and fox // Cytogenet. Cell Genet. 2000. V. 90. № 3–4. P. 268–270.
36. Telenius H., Carter N.P., Bebb C.E. et al. Degenerate oligonucleotide-primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer // Genomics. 1992. V. 13. № 3. P. 718–725.
37. Карамышева Т.В., Матвеева В.Г., Шорина А.Р., Рубцов Н.Б. Клинический и молекулярно-цитогенетический анализ редкого случая мозаицизма по частичной моносомии 3r и частичной трисомии 10q у человека // Генетика. 2001. Т. 37. № 6. С. 811–816.
38. Lichter P., Cremer T., Borden J. et al. Delineation of individual human chromosomes in metaphase and interphase cells by *in situ* suppression hybridization using recombinant DNA libraries // Hum. Genet. 1988. V. 80. № 3. P. 224–234.

Comparative FISH Analysis of C-Positive Blocks of Centromeric Chromosomal Regions of Pygmy Wood Mice *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae)

T. V. Karamysheva^a, A. S. Bogdanov^b, I. V. Kartavtseva^c, T. V. Likhoshvay^d,
M. N. Bochkarev^a, N. E. Kolcheva^e, V. V. Marochkina^f, and N. B. Rubtsov^{a,d}

^a Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia;

e-mail: kary@bionet.nsc.ru

^b Koltzov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia;

e-mail: cytogen-idb@yandex.ru

^c Institute of Biology and Soil Science, Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia;

e-mail: irina-kar52@rambler.ru

^d Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia

^e Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144 Russia;

e-mail: kolcheva@ipae.uran.ru

^f Amudarya State Reserve, Seidi, 746222 Turkmenistan;

e-mail: northwind65@rambler.ru

The composition and homology of centromeric heterochromatin DNA has been compared in representatives of the Asian race and two chromosomal forms (Eastern European and Southern European) of the European race of the pygmy wood mouse *Sylvaemus uralensis* by means of in situ hybridization with metaphase chromosomes of microdissection DNA probes obtained from centromeric C-blocks of mice of the Southern European chromosomal form and the Asian race. Joint hybridization of both DNA probes yielded all possible variants of centromeric regions in terms of the presence of repetitive sequences homologous to those of some or another dissection region, which indicates a diversity of centromeric regions differing in DNA composition. However, most variations of the fluorescent in situ hybridization (FISH) patterns are apparently related to quantitative differences of repetitive elements of the genome. Experiments with the DNA probe obtained from the genome of the Southern European form of the pygmy wood mouse have shown that the number of intense FISH signals roughly corresponds to the number of large C-segments in representatives of the European race, which is characterized by a large amount of the centromeric C-heterochromatin in the karyotype. However, intense signals have been also detected in experiments on hybridization of this probe with chromosomes of representatives of the Asian race, which has no large C-blocks in the karyotype; thus, DNA sequences homologous to heterochromatic ones are also present in nonheterochromatic regions adjacent to C-segments. Despite the variations of the numbers of both intense and weak FISH signals, all chromosomal forms/races of *S. uralensis* significantly differ from one another in these characters. The number of intense FISH signals in DNA from the samples of pygmy wood mice from eastern Turkmenistan (the Kugitang ridge) and southern Omsk oblast (the vicinity of the Talapker railway station) was intermediate between those in the European and Asian races, which is apparently related to a hybrid origin of these populations (the hybridization having occurred long ago in the former case and recently in the latter case).

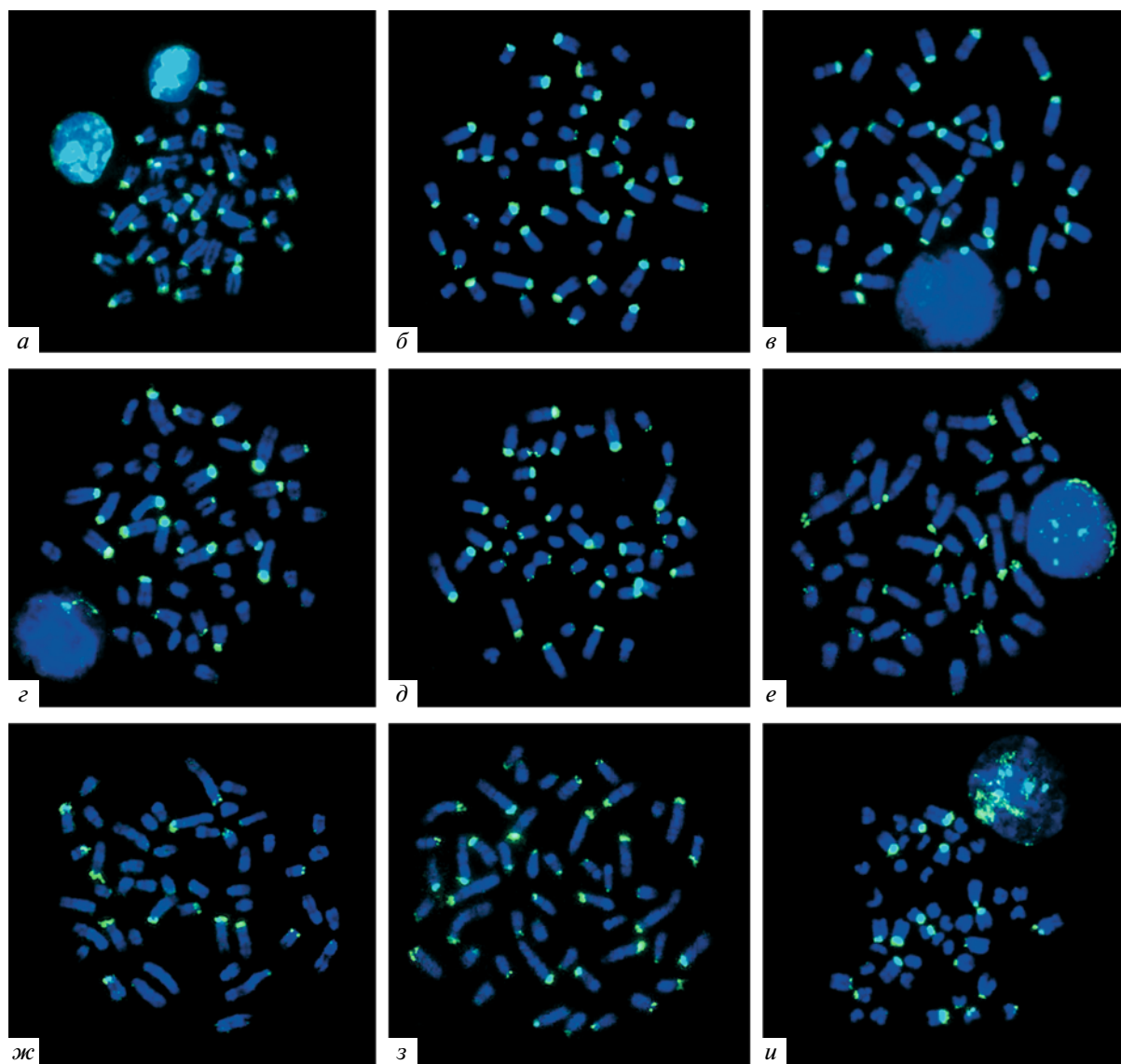


Рис. 4. Гибридизация *in situ* ДНК-пробы Sur5 с метафазными хромосомами малых лесных мышей восточно-европейской хромосомной формы (а–в), южно-европейской хромосомной формы (г, д), азиатской расы (е–з) и отдаленного гибрида восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы (и). FISH-сигналы – зеленого цвета. Общая окраска хромосом выполнена с использованием DAPI. Представлены метафазные пластинки животных из Оренбургской обл., окр. пос. Канчерово (а); Свердловской обл., Висимский заповедник (б); Омской обл., окр. ж/д станции Амре (в); Кабардино-Балкарии, г. Нальчик (г); Краснодарского края, г. Хоста (д); г. Новосибирска (е); Республики Алтай, г. Горно-Алтайск (ж); Туркменистана, с хребта Кугитанг (з); Омской обл., окр. ж/д станции Талапкер (и).

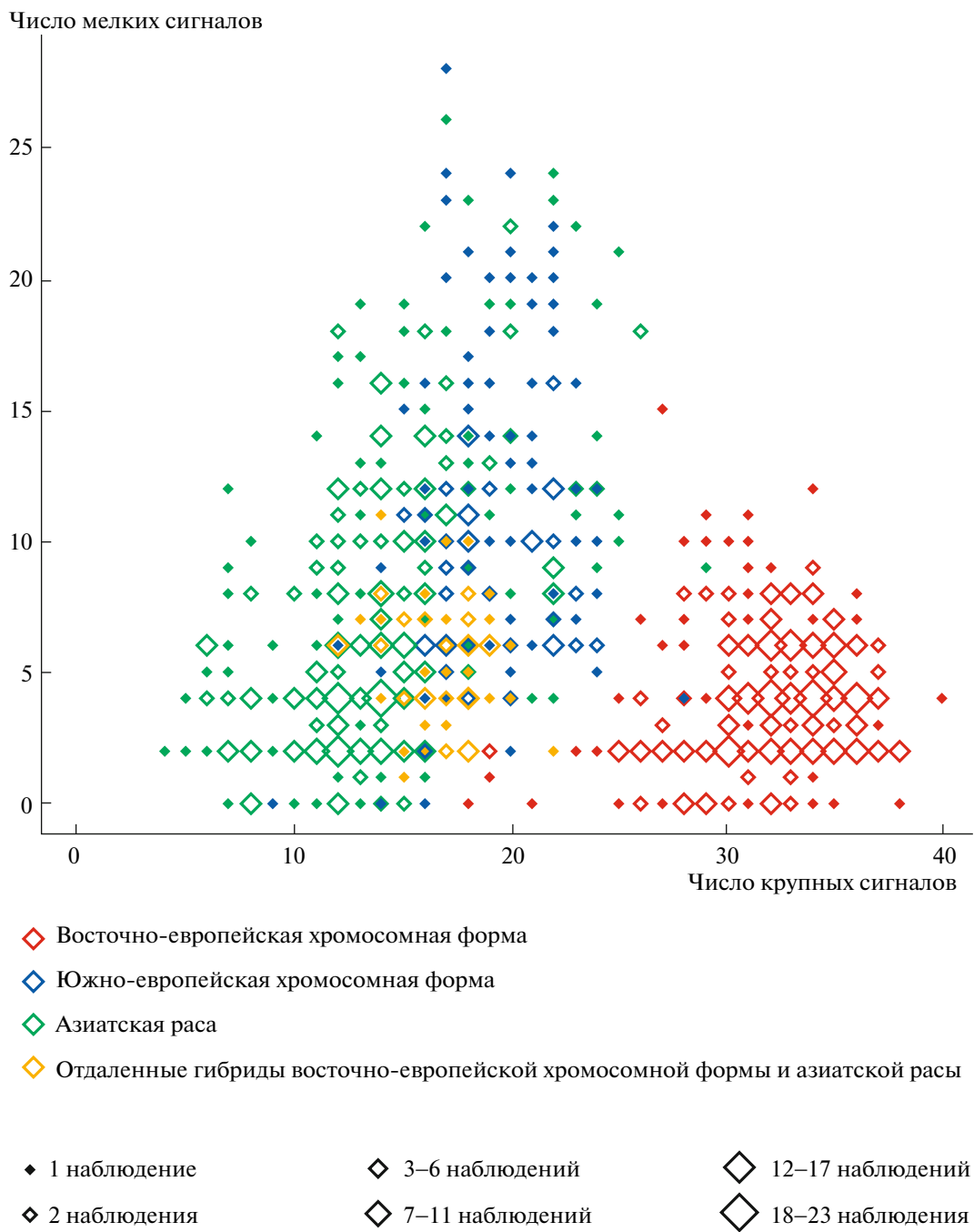


Рис. 6. Количество крупных и мелких сигналов, полученных при использовании ДНК-пробы Sur5, в кариотипах малых лесных мышей разных хромосомных форм/рас. Размеры точек соответствуют числу наблюдений.