

Ю. Л. НИКИФОРОВ, М. Н. САХАРОВА, М. М. БЕКНАЗАРЬЯНЦ, И. А. РАПОПОРТ

**СПЕЦИФИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ ХРОМА НА ХАРАКТЕР
ПУФООБРАЗОВАНИЯ У *DROSOPHILA MELANOGASTER***

(Представлено академиком Н. П. Дубининым 6 V 1970)

В 1952 г. пуфы гигантских хромосом и так называемые кольца Бальбиани, открытые еще в прошлом веке, приобрели благодаря работам Беермана (1) характер экспериментального доказательства морфологического выражения активности генов. Вслед за Беерманом ряд авторов исследованиями на гигантских хромосомах различных представителей отряда двухкрылых показали, что существует закономерная последовательность в порядке активации пуфов, которая четко связана со стадиями онтогенеза (2-5). Клевер и Карлсон (6) обнаружили, что гормон проторакальных желез экдизон индуцирует образование пуфов, которые возникают на известных стадиях линьки. Результаты специфического воздействия экдизона в различных концентрациях привели авторов к выводу, что активность, по крайней мере некоторых пуфов, оказывается под прямым контролем этого гормона (7-12). Крогер с соавторами выдвигают иную гипотезу, согласно которой экдизон и другие агенты — цинк, магний, хлороформ, тиоацетамид, наркотики и т. д., являющиеся, по их мнению, имитаторами действия экдизона, действуют не прямо, а посредством изменения соотношения калия и натрия (13).

В настоящей работе была поставлена задача изучения характера пуфобразования под влиянием одного из ферментных ядов CrCl_3 . И. А. Рапопорт (14) показал, что это соединение вызывает у дрозофилы специфические морфологические изменения, т. е. морфозы, выражающиеся в меланических опухолях внутренних органов у личинок и имаго. Исследования проводились на дикой Батумской линии Д-32. Хлористый хром в концентрации $2,5 \cdot 10^{-5}$ M содержался в питательной среде, на которую затем дрозофилы откладывали яйца. Для приготовления препаратов использовали личинок 3 стадии, достигших возраста 120 час. Слюнные железы извлекались в стандартном растворе Рингера, фиксировались в 45% уксусной кислоте и окрашивались ацетокармином. Приготавливались также постоянные препараты по стандартной методике.

В каждой железе исследовались только несколько самых крупных дистальных ядер. Оценку пуфов проводили согласно общепринятым критериям по степени разрыхленности структуры и утолщению диаметра локуса в сравнении с прилегающими участками. Пуфы были разделены на 4 типа: I тип — небольшое увеличение междискового пространства, не выходящее за диаметр хромосомы; II тип — хорошо заметное расхождение дисков и небольшое превышение диаметра; III тип — разрыхленная структура и превышение диаметра хромосомы в 1,5—2 раза, IV тип — еще более крупный пуф. Локализация пуфов проводилась по стандартной карте хромосом Бриджеса (15).

Полученные результаты представлены в виде гистограмм (рис. 1). Сверху от шкалы, разбитой подобно карте хромосомы, на 20 групп, каждая из которых содержит 6 делений, соответствующих отрезкам («локусам») А, В, С, D, E, F, расположены данные эксперимента с воздействием хлористого хрома, а снизу от шкалы — данные контроля. Степень активности пуфов, оцениваемых по четырем типам, отражена на гистограммах соответственно в виде одного, двух, трех и четырех квадратиков.

В работе приводятся только данные по аутосомам — правому и левому плечам 2 и 3 хромосом. На 4 хромосоме никаких признаков изменения структуры обнаружено не было.

2L-хромосома. В нормальном развитии это плечо используемой нами линии имеет 17 пуфов (рис. 1А). В эксперименте число их стало 18, так как появился новый пуф 34D — II типа.

Было обнаружено появление двух других новых пуфов III типа — 34C и 39C, которые на гистограммах не отражены, так как встречаются редко. Пуф 34A в эксперименте сократил свои размеры до I типа. Ряд пуфов: 21EF, 32C, 33B показали противоположный эффект — в эксперименте они выражены сильнее, чем в контроле, и, кроме того, небольшие пуфы 25B и 25D слились в один мощный сложный пуф 25 ABCD.

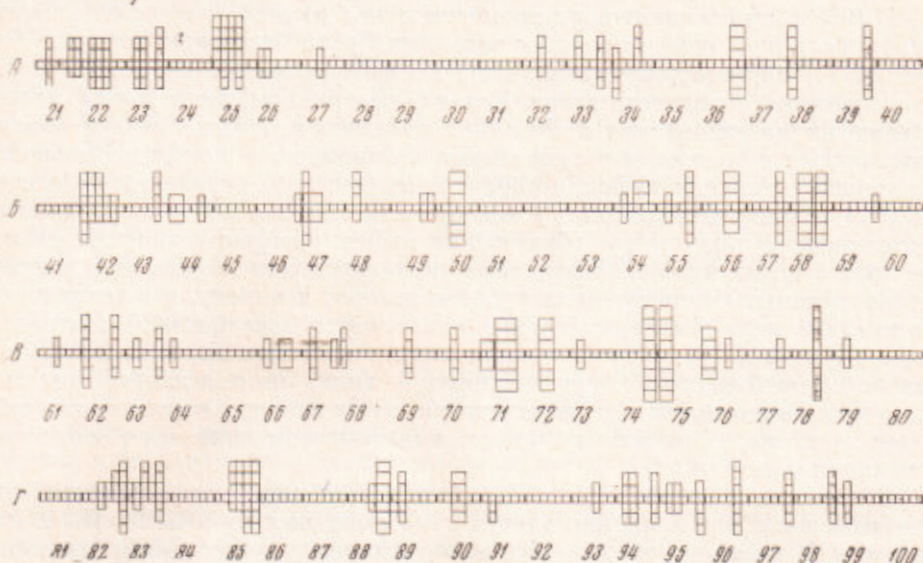


Рис. 1. Влияние CrCl_3 в концентрации $2,5 \cdot 10^{-3} M$ на пуфы у личинок *D. melanogaster* 120-часового возраста. А — 2L-; Б — 2R-; В — 3L-; Г — 3R-хромосомы

2R-хромосома. В норме для этого плеча хромосомы нами зарегистрировано 18 пуфов, в эксперименте 19 (рис. 1Б). Специфическим на воздействие хлористого хрома является, очевидно, новый пуф II типа 54DE. Редко встречается более крупный новый пуф III типа 53E. В локусах 43E, 48B, 56DE наблюдается значительное возрастание синтетической активности, пуф 42A преобразуется в мощный сложный пуф 42AD.

3L-хромосома. Общее количество пуфов в контроле 24, в эксперименте также 24 (рис. 1В). У личинок, подвергнутых воздействию хлористого хрома, зарегистрировано появление нескольких новых, но редко встречающихся пуфов — 61D, 61F, 62F, 68F. Пуф 67F в эксперименте был более крупный (III типа), чем в норме (I типа).

3R-хромосома. Это плечо личинок 120-часового возраста в нормальном развитии имеет 18 пуфов. В результате воздействия хлористого хрома суммарная протяженность материала пуфов увеличилась, но число их стало 15 (рис. 1Г). Это уменьшение общего количества пуфов произошло за счет объединения 82C и 82F путем охвата пуфообразованием промежуточных локусов. Аналогичным путем образовался и другой, такой же сложный пуф 85DF. Пуф 83E в эксперименте выражен сильнее, чем в контроле. Новым является пуф 83C, возникший, очевидно, под влиянием хрома. Подавление синтетической функции произошло в локусах 95BC, 95F и 99B, которые в норме выглядят как хорошо развитые пуфы II—III типа, а в эксперименте выражены по I типу.

Таким образом, воздействие хлористого хрома на пуфообразование у *D. melanogaster* оказалось весьма значительным. Во-первых, было заре-

гистрировано появление четырех новых пухов — 34D, 54DE, 83C, 85E, которых нет ни в норме нашей линии, ни в данных других авторов, описавших различные линии *D. melanogaster* (², ⁴, ⁵, ¹⁶). Во-вторых, тринадцать пухов — 21EF, 25AD, 32C, 33B, 42AC, 43E, 48B, 56DE, 67F, 82CF, 83AB, 83E, 85DE в эксперименте имеют значительно большие размеры, чем в контроле, что, очевидно, связано с усилением их синтетической активности. В-третьих, было обнаружено обратное явление на менее многочисленной группе: четыре пуфа — 34A, 95BC, 95F, 99B в опыте спадают до минимума, что свидетельствует о достаточно сильном подавлении активного в норме синтеза в этих локусах. Кроме того, у личинок, выросших на среде с хромом, было обнаружено семь новых пухов — 34C, 39C, 53E, 61D, 61F, 62F, 68F, которые появляются с низкой частотой, вследствие чего их активность на гистограммах не отражена. Важно отметить, что все изменения в формировании пухов были вызваны низкой концентрацией хлористого хрома ($2,5 \cdot 10^{-5}$ M), которая не вызвала понижения жизнеспособности личинок. В результате действия сублетальной концентрации CrCl_3 , вызывавшей морфозы (¹⁴), не было обнаружено существенных различий в формировании пухов по сравнению с действием микродозы того же вещества. Все предшествовавшие описанные в литературе эксперименты по воздействию различных агентов проводились либо в условиях инъекции личинки, либо в условиях изоляции слюнной железы в физиологическом растворе, содержащем исследуемое вещество. Неоднократно подчеркивалось (¹³), что минимальные на первый взгляд ранения органа могут привести к серьезным сдвигам в динамике работы пухов. Условия постановки эксперимента с воздействием микродозы вещества, внесенного в питательную среду, исключают грубое механическое воздействие и одновременно позволяют проследить весь морфогенез насекомого. Это дает возможность сопоставить местонахождение пуфа на карте хромосом с фенотипическим проявлением модификации, что представляет собой принципиально новый подход к локализации гена.

Локализация генов на мутационном материале, осуществляемая с помощью кроссинговера, использует различия между аллеломорфами. Результат кроссинговера учитывается во втором, иногда в третьем поколении. Локализация генного материала на основе сопоставления фенотипов с изменениями в картине пухов осуществляется в нулевом поколении и представляет собой результат прямого вмешательства ингибиторов в синтез ферментов. Несмотря на то что новый подход более грубый, чем локализация генов на мутационном материале, он ценен возможностью перекрыть один вид информации, с помощью которого строится карта хромосом, другим, независимым, полученным в специализированной функциональной сфере. Важным преимуществом в использовании корреляции между индуцированными пуфами и фенотипами является возможность наблюдать сразу полный набор хромосом, между тем как обычный способ генной локализации обычно тщательно исследует кроссинговер лишь на отдельной хромосоме.

Приведенные выше результаты эксперимента свидетельствуют о том, что мы столкнулись с веществом, воздействие которого на пуфообразование носит, несомненно, иной характер, чем влияние других агентов, таких как экдизон, калий, натрий, магний, хлороформ, наркотики и другие.

И. А. Рапопорт (¹⁴) показал, что хром в числе других ферментных ядов вызывает специфические формообразовательные изменения у личинок и имаго *D. melanogaster* путем инактивации важного для морфогенеза фермента или группы ферментов.

Результаты настоящего эксперимента позволяют предположить, что оригинальность воздействия хрома на пуфообразование может быть связана с регуляцией функции фермента по типу обратной связи. Можно допустить, что первым этапом влияния хрома на формирование пуфа является блокирование каталитической активности фермента, необходимого для

