

М. Г. АЙЗЕНЗОН, И. Ф. ЖИМУЛЕВ

**ГОРМОНАЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ ЛИЗИСА СЛЮННОЙ ЖЕЛЕЗЫ
ЛИЧИНОК DROSOPHILA MELANOGASTER**

(Представлено академиком Д. К. Беляевым 2 I 1975)

У дрозофилы, как и у всех насекомых, развивающихся с полным метаморфозом, личинка превращается в куколку, из которой вылетает взрослая муха — имаго. На куколочной стадии личиночные органы лизируются и формируются органы взрослых мух. Некоторые события метаморфоза, такие как затвердевание и потемнение кутикулы у куколки, выведение специфического мукопротеинового секрета из клеток в проток слюнных желез, обусловлены действием гормона экдизона (¹⁻³), который появляется в гемолимфе личинок *D. melanogaster* через 110 час. после откладки яиц. Под влиянием экдизона изменяется и спектр активности генов, о чем свидетельствует появление в хромосомах слюнных желез *Drosophila melanogaster* пuffed, специфичных для предкуколки (⁴).

Существует ряд косвенных данных, позволяющих предположить, что под влиянием экдизона происходит лизис личиночной слюнной железы. Известно, что слюнная железа, взятая у личинки дрозофилы начала 3-го возраста, когда концентрация экдизона в гемолимфе еще очень низка, при трансплантации в брюшко взрослой мухи может находиться там, не лизируясь, до 50 дней (^{5, 6}). Если же трансплантировать одновременно слюнную железу и кольцевую железу, вырабатывающую экдизон (⁷), слюнная железа обнаруживает некоторые начальные признаки лизиса (⁸).

Остается, однако, неизвестным, можно ли вызвать в таких условиях полный лизис железы и необходима ли для лизиса экдизон-стимулируемая активность генов. Выяснению этих вопросов посвящена настоящая работа.

Использовали систему культивирования слюнных желез *in vivo*. Слюнные железы личинок-доноров выделяли в физиологическом растворе, затем по методике Эфрусси и Бидла трансплантировали в брюшко взрослых мух-реципиентов (⁹). Донорами служили личинки третьего возраста и 0-часовые предкуколки дикой линии Батуми-11 *D. melanogaster*. В качестве реципиентов использовали неvirginных самок той же линии. Отбор группы синхронно развивающихся личинок — доноров проводили в момент вылупления их из яйца (¹⁰). Возраст личинок указан в часах от откладки яиц.

В разных вариантах опыта в брюшко мухи, где находилась трансплантированная железа, вводили экдистерон (фирма «Mann Research Laboratories») $2,5-125 \cdot 10^{-3}$ мкг/особь, ингибиторы синтеза РНК — актиномицин D (фирма «Serva») $25 \cdot 10^{-3}$ мкг/особь или белка — циклогексимид (фирма «Sigma») $50 \cdot 10^{-3}$ мкг/особь. Все реактивы были разведены в растворе Эфрусси — Бидла (⁹). Объем жидкости, вводимый при инъекции, 0,005 мкл.

По истечении определенного срока культивирования мух-реципиентов разрезали и отыскивали в брюшке слюнную железу. Отсутствие железы должно свидетельствовать о ее лизисе. Достоверность отличий между вариантами опытов определяли с помощью критерия «фи» Фишера (¹¹).

Почти все слюнные железы, взятые от 0-часовых предкуколок, т. е. от особей, в гемолимфе которых в течение последних 10 час. присутствовал эндогенный экдизон и у которых уже полностью прошла волна экдизон-

Таблица 1

Зависимость лизиса слюнных желез от возраста личинок-доноров и времени инкубации в брюшке имаго

№ опыта	Возраст личинок-доноров слюнных желез, час.	Время инкубации слюнных желез в имаго, сутки	Число мух-реципиентов, у которых железа обнаружена	Число вскрытых мух-реципиентов
1	0-часовая предкуколка	4	5 (13,1)	38
2	96	4	9 (100)	9
3	72	6	29 (96,7)	30
4	72	23—24	14 (83,5)	17
5	72	26—48	24 (92,5)	26

Примечание. В скобках — процент от числа вскрытых мух-реципиентов, принятого за 100%.

Таблица 2

Действие эхдистерона и влияние ингибиторов синтеза РНК и белков на лизис слюнных желез

№ опыта	Вариант опыта	Время инкубации железы		Количество эхдистерона, вводимое в муху, 10^{-3} мкг/осфб	Число мух-реципиентов, у которых железа обнаружена	Число вскрытых мух-реципиентов
		до инъекции эхдистерона, сутки	после инъекции эхдистерона, часы			
6	Инъекция эхдистерона	4	4—6	12,5—125	23 (85,3)	27
7	То же	4	24	125	5 (38,5)	13
8	» »	4	36	12,5—125	2 (6,5)	31
9	» »	4	48	12,5—125	7 (14,3)	49
10	» »	25	48	125	4 (30,8)	13
11	» »	4	48	2,5	21 (77,8)	27
12	Инъекция активомидина и эхдистерона	6	48	125	20 (80,0)	25
13	Инъекция циклогексимида и эхдистерона	4—6	48	125	25 (83,3)	30

Примечание. В скобках — то же, что в табл. 1.

стимулируемых пуфов, при трансплантации в брюшко имаго лизируются. Железы 72- и 96-часовых личинок, еще не подвергавшиеся действию эхдистерона, можно культивировать до 48 дней (табл. 1). Более длительных наблюдений не проводили, так как мухи-реципиенты гибли от старости. Результаты опытов № 1 и №№ 2—5 (табл. 1) различаются с достоверностью $P > 0,999$. При попарном сравнении опытов №№ 2—5 достоверных отличий не найдено.

При инъекции эхдистерона в брюшко мух, которым предварительно трансплантировали слюнные железы 72-часовых личинок, 61,5% желез лизируется полностью уже через 24 часа (табл. 2). Остальные железы молочно-белого цвета, что является признаком начала лизиса. Начиная с 36 час. после инъекции гормона, железы лизируются в той же мере, что и трансплантированные железы 0-часовых предкуколок (табл. 1, 2). По-

сколькx экдистерон в количестве $12,5-125 \cdot 10^{-3}$ мкг/особь оказывал сходное действие, результаты опытов суммированы. Экдистерон в количестве $2,5 \cdot 10^{-3}$ мкг/особь оказывал значительно меньшее влияние на лизис. Интересно, что способность к лизису частично сохраняется у слюнных желез даже после 25-дневной инкубации (табл. 2).

Чтобы выяснить синтезируются ли под влиянием экдистерона новые РНК и белки, необходимые для лизиса, в брюшко имаго, содержащее трансплантированную слюнную железу 72-часовой личинки, вводили актиномицин D или циклогексимид и через $60 \pm 5-10$ мин. инъецировали экдистерон. Результаты специально проведенного исследования показали, что в течение 1 часа актиномицин ингибирует синтез РНК на 74,3%, а циклогексимид — синтез белка на 95,9%. При подавлении синтеза РНК и белков экдистерон не вызывает лизис слюнных желез (табл. 2, №№ 12, 13). (Результаты опытов №№ 12, 13 и 8, 9 различаются с достоверностью $P > 0,999$, при сравнении результатов опытов №№ 12, 13 и 3 достоверных отличий не выявлено.) Кажется возможным сделать следующие выводы: для лизиса слюнной железы личинки необходим экдизон, который стимулирует синтез РНК и белков, участвующих в лизисе. По-видимому, экдизон индуцирует активность генов, контролирующих синтез белков, участвующих в процессах лизиса. Известно, что в хромосомах слюнных желез под действием экдизона резко активизируется синтез РНК⁽¹²⁾ и возникают так называемые экдизон-стимулируемые пuffs. Вполне вероятно, что лизис обеспечивается активностью пuffs этой группы.

Авторы приносят глубокую благодарность Д. Т. Судзуки (Канада) за любезно предоставленный препарат экдистерона, И. И. Кикнадзе, Е. С. Беляевой, Н. Н. Колесникову за обсуждение результатов.

Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Академии наук СССР
Новосибирск

Поступило
30 XII 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ C. L. M. Poels, *Devel. Biol.*, v. 23, 3, 210 (1970). ² C. L. M. Poels, A. de Loof, H. D. Berendes, *J. Insect. Physiol.*, v. 17, 12, 1717 (1971). ³ C. L. M. Poels, *Cell Differ.*, v. 1, 1, 63 (1972). ⁴ М. Эшбернер, *Оптогенез*, т. 5, 2, 107 (1974). ⁵ E. Hadorn, M. Gehring, M. Staub, *Experientia*, v. 19, 6, 530 (1963). ⁶ H. D. Berendes, T. K. H. Holt, *J. Exp. Zool.*, v. 160, 2, 229 (1966). ⁷ E. Hadorn, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 23, 9, 478 (1937). ⁸ D. Bodenstern, *Biol. Bull.*, v. 84, 1, 13 (1943). ⁹ B. Ephrussi, G. B. Beadle, *Am. Naturalist*, v. 70, 3, 218 (1936). ¹⁰ M. Ashburner, *Chromosoma*, v. 21, 4, 398 (1967). ¹¹ Н. А. Плохинский, *Алгоритмы биометрии*, МГУ, М., 1967, стр. 26. ¹² И. Ф. Жимулев, Е. С. Беляева, *Генетика*, т. 10, 9, 71 (1974).