

УДК 575.591.3

ГЕНЕТИКА

Е. В. ПОЛУЭКТОВА, В. Г. МИТРОФАНОВ, Г. Г. ГАУЗЕ

ИЗМЕНЕНИЯ В СПЕКТРЕ ПУФОВ ХРОМОСОМ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ У *DROSOPHILA VIRILIS* ПОД ВЛИЯНИЕМ 5-БРОМДЕОКСИУРИДИНА

(Представлено академиком В. Д. Тимаковым 11 II 1975)

Аналог тимидина 5-бромдеоксиуридин (БУДР) подавляет нормальную клеточную дифференцировку в целом ряде систем *in vitro* (¹⁻⁶). При содержании личинок *Drosophila* на среде с добавлением БУДР у имаго возникают различные морфозы (⁷). Изучение синтеза растворимых белков у личинок *D. melanogaster*, содержащихся на среде с добавлением БУДР, показало снижение синтеза этих белков примерно на 20%. На фореграммах наблюдали появление полос аномального белка и исчезновение нескольких полос белка видимых в контроле (⁸). Предполагается, что БУДР вмешивается в регуляцию синтеза мРНК посредством изменения конфигурации ДНК-молекул.

Образование пуфов в политенных хромосомах *Diptera* тесно связано с клеточным метаболизмом, в частности метаболизмом РНК (⁹). Следовательно, значительный интерес представляет изучение изменений в спектре пуфов при резком нарушении клеточного метаболизма. Цель настоящей работы — изучение влияния концентрации содержащегося в среде БУДР на спектр пуфов хромосом слюнных желез *Drosophila*.

В опыте использовали личинки *D. virilis* линии Рu-40, выделенной из Ташкентской популяции, в геном которой был интродуцирован ген *Puffed*. Изучено 6 концентраций БУДР, которые предварительно растворяли в среде стандартного состава (¹⁰). В культуральные пробирки (диаметром 24 мм) вносили по 50 личинок первого возраста, заранее отобранных из массовых культур, содержащихся на среде без добавления БУДР. Культуры контроля и опыта содержали при 25°. Спектр пуфов анализировали на стадии формирования пупария. Для каждой из концентраций БУДР готовили давленные ацетоорсеиновые препараты хромосом слюнных желез из 10–16 личинок. Спектр пуфов анализировали не менее чем в

Таблица 1

Зависимость выживаемости особей от концентрации добавленного в среду БУДР

Концентрация, мол.	Число использованных особей	Гибель особей по стадиям, %					Вылетевшие особи, % от числа окуклившихся личинок
		личинки	формирование пупария	предкуколлка	ранняя куколлка	поздняя куколлка	
1·10 ⁻²	140	87,1±2,8	12,9±3,0	—	—	—	—
8·10 ⁻³	139	69,1±4,0	17,3±3,2	13,6±3,4	—	—	—
6·10 ⁻³	134	45,6±4,3	14,9±3,1	39,5±4,2	—	—	—
4·10 ⁻³	136	11,0±2,7	3,8±1,6	85,3±3,0	—	—	—
2·10 ⁻³	135	2,2±1,3	—	62,2±5,0	19,3±3,4	16,3±3,2	—
1·10 ⁻³	136	6,6±2,1	—	—	7,4±2,2	67,6±4,0	19,7±3,5

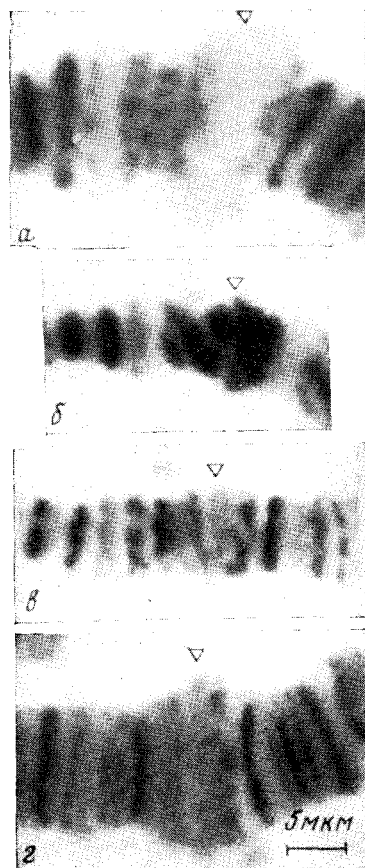


Рис. 1. Мозаичность выраженности
пуфа 2=D=3 в ядрах дистального
отдела слюнной железы *D. virilis*
при добавлении к среде $8 \cdot 10^{-3}$ М
БУДР. а — контроль, б — полный
регресс, в — слабое активирование,
г — максимальная величина пуфа в
опыте



Рис 1. Локализация арилсульфатазы в первичных лизосомах печени крыс. *а* — группа первичных лизосом, 22 000 $\times$; *б* — момент «отпочковывания» первичной лизосомы от структур аппарата Гольджи; диффузное распределение активности арилсульфатазы, 40 000 $\times$; *в* — момент отпочковывания первичной лизосомы от структур аппарата Гольджи; мембранная локализация арилсульфатазы, 40 000 $\times$. Препараты не контрастированы

10 ядрах дистального отдела железы. Остальных особей использовали для учета выживаемости (табл. 1).

В геноме личинок *D. virilis*, содержащихся на среде без добавления БУДР, на выбранной стадии четко выражены 120 пуфов, примерно одинаково распределяющиеся по всем длинным хромосомам; 6-микрохромосома содержит только 1 пуф и эффекта действия БУДР на ней не обнаружено. При добавлении $1 \cdot 10^{-2}$ М БУДР к среде основная масса личинок гибнет в 3-м возрасте (табл. 1). Из 140 использованных личинок стадии формирования пупария достигли только 28 особей. Личинки похожи по фенотипу на *Lethal* (3) *translucida*.

При анализе хромосом слюнных желез наблюдали снижение степени политении. Толщина хромосом в опыте составляла примерно половину от контроля (рис. 1). Ядра клеток одной и той же железы мозаичны по выраженности степени политении. Снижение степени политении зависело от концентрации добавленного к среде БУДР.

В спектре пуфов при добавлении к среде $1 \cdot 10^{-2}$ М БУДР изменения наблюдали во 2-й и 5-й хромосомах (табл. 2). Размер пуфа района 5-G-3 в контроле варьирует, в некоторых ядрах он слабо выражен, однако полного регресса, как в опыте, в контроле никогда не наблюдали. Пуф 2-D-3 в контроле четко выражен. Его активность достигает 2–3 класса по классификации (⁴¹). В опыте при добавлении $1 \cdot 10^{-2}$ М БУДР пуфа не наблюдали. Пуф 2-F-4 появляется только в опыте. В ряде клеток он достигает 3 класса активности. Ранее этот пуф наблюдали при нормальном развитии *D. virilis*, линии 9, на 78 часе после 2-й линьки личинок.

При добавлении к среде $8 \cdot 10^{-3}$ М БУДР также преобладает гибель особей в 3-м личиночном возрасте (табл. 1). Стадии формирования пупария достигают 35 особей; 19 особей из 139 развиваются до стадии предкуколки. В спектре пуфов наблюдали появление пуфа 2-D-3 (табл. 2). Однако активность пуфа не выходит за пределы 1-го класса. Степень выраженности пуфа варьирует (рис. 1). Пуф 2-F-4 резко уменьшается в размерах. Активность его снижается до 1-го класса, в некоторых ядрах пуф исчезает полностью. Снижение активности наблюдали и в районе 2-G-5. В 5-й хромосоме появляется новый пуф 5-C-2. Его активность не превышает уровень 1-го класса.

Таблица 2

Изменение в спектре пуфов в зависимости от концентрации БУДР в среде

№№ п.п.	Районы хромосом	Концентрация, мол/л					
		$1 \cdot 10^{-2}$	$8 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$
1	X-A-7	—	—	+++	+	++	—
2	2-C-3	+	+	+	+	+-	+
3	2-D-3	—	+-	+-	+-	+-	+-
4	2-E-4	—	—	+++	+	++	+
5	2-E-5	+	+	+	+	+-	+
6	2-E-7	+	+	+	+	++	+
7	2-F-4	+++	+-	++	+	++	—
8	2-G-2	—	—	—	+++	++	+
9	2-G-5	++	+-	++	++	++	+
10	3-A-1	+	++	+	+	+	+
11	3-A-4	—	—	—	+++	+	+
12	3-C-4	+	+	+	+	++	+
13	4-D-6	+	+	+-	+-	+-	+-
14	4-G-5	—	—	+++	+	++	+
15	5-C-2	—	+++	+	+	+	+
16	5-G-3	—	—	—	—	—	—

Примечание. + присутствие пуфа, — полный регресс, ++ увеличение активности, +— снижение активности, +++ появление пуфа при соответствующей концентрации впервые.

Повышается активность в районе 3-A-1. При добавлении к среде $6 \cdot 10^{-3}$ М БУДР число погибших особей в 3-м личиночном возрасте и на стадии предкуколки примерно одинаково (табл. 1). В спектре пухов при этой концентрации БУДР появляется 3 новых пуха, никогда не наблюдаемых при нормальном развитии (табл. 2): в X-хромосоме пух X-A-7 наблюдается в отдельных ядрах. Пуфы 2-E-4 и 4-G-5 тоже мозаичны по своей выраженности. Даже рядом лежащие клетки резко различаются по степени выраженности: от пуха 2-3 класса до полного его отсутствия (диск). Однако пуфы эти встречаются у всех анализируемых особей и значительно чаще, чем пух X-A-7. Пуфы 2-F-4 и 2-G-5 при добавлении $6 \cdot 10^{-3}$ М БУДР к среде имеют увеличенную активность. Пух 4-D-6 довольно резко уменьшается в размере.

Добавление к среде $4 \cdot 10^{-3}$ М БУДР вызывает гибель особей преимущественно на стадии предкуколки (табл. 1). В спектре пухов более часто встречается пух X-A-7. В районах 2-G-2 и 3-A-4 образуются новые пуфы, не наблюдаемые при нормальном развитии.

Добавление к среде $2 \cdot 10^{-3}$ М БУДР вызывает гибель большинства особей тоже на стадии предкуколки. Однако примерно половина особей гибнет уже на стадии куколки (табл. 1). В спектре пухов чаще встречается пух X-A-7. Увеличивается активность пухов в 7 районах, снижается в 4 районах (табл. 2). Все пуфы мозаичны по выраженности в клетках одного и того же отдела железы.

При добавлении $1 \cdot 10^{-3}$ М БУДР подавляющее большинство особей гибнет на стадии поздней куколки. До стадии имаго развиваются 19,7% особей (табл. 1). Спектр пухов приближается к таковому у контроля (табл. 2).

Таким образом, гибель особей *D. virilis* зависит от концентрации добавленного к среде БУДР. В спектре пухов обнаружены изменения в 16 районах из 120 активирующихся при нормальном развитии. Изменения наблюдали только в активности стадийно специфичных пухов. Наиболее интересным явлением, обнаруженным в данной работе, является то, что БУДР индуцирует появление 6 новых пухов, никогда не наблюдаемых при нормальном развитии.

Механизм влияния БУДР на дифференцировку у эукариотических организмов остается пока неизвестным. Мы предполагаем, что БУДР, включаясь в хромосомную ДНК, как аналог тимидина, приводит к изменению ее взаимодействия с белками хроматина, в результате чего нарушается пуфообразование.

Институт биологии развития
Академии наук СССР
Москва

Поступило
3 II 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ N. K. Wessells, J. Cell Biol., v. 20, 415 (1964). ² I. K. Coleman, A. W. Coleman, E. I. H. Hartline, Developm. Biol., v. 19, 527 (1969). ³ R. Lasher, K. D. Cahn, *ibid.*, v. 19, 415 (1969). ⁴ I. M. Pawelek, *ibid.*, v. 19, 52 (1969). ⁵ R. Bischoff, H. Holtzer, J. Cell Biol., v. 44, 134 (1970). ⁶ R. W. Turkington, G. C. Majumder, M. Riddle, J. Biol. Chem., v. 246, 1814 (1971). ⁷ R. M. Rizki, H. A. Douthit, I. M. Rizki, Mutation Res., v. 14, 101 (1972). ⁸ E. F. Gilbert, H. C. Pitot *et al.*, Comp. Biochem. and Physiol., v. 47, 229 (1974). ⁹ Developmental Studies on Giant Chromosomes, W. Beermann (Ed.), v. 4, Berlin — Heidelberg — N. Y., 1972. ¹⁰ E. B. Полуэктова, Генетика, т. 5, № 9, 124 (1969). ¹¹ H. D. Berendes, Chromosoma, v. 17, 35 (1965).