

Н.В. САВИНА, О.В. ДАЛИВЕЛЯ,
Н.В. НИКИТЧЕНКО, Т.Д. КУЖИР

Институт генетики и цитологии
НАН Беларуси, Минск

ВЛИЯНИЕ МАЛЫХ ДОЗ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ АЛКИЛИРУЮЩИХ АГЕНТОВ В ИССЛЕДОВАНИЯХ НА ДРОЗОФИЛЕ



Исследовано влияние малых доз алкилирующих агентов (0,05–0,1 мМ) на выживаемость половых клеток и плодовитость особей, уровень эмбриональной и постэмбриональной летальности, а также частоту рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций, индуцированных высокими дозами мутагенов у *Drosophila melanogaster*. Предобработка взрослых самцов низкими дозами метил- и этилметансульфоната (ММС, ЭМС) не влияла или даже усиливала цитотоксические и мутагенные эффекты последнего как в зрелых половых клетках, так и на премейотических стадиях сперматогенеза. В отличие от этого предобработка личинок низкими дозами ЭМС защищала их от действия более высоких доз, что существенно повышало плодовитость самцов, снижало эмбриональную и постэмбриональную летальность в F_1 , приводило к более чем двукратному уменьшению частоты мутаций в F_2 . Степень проявления адаптивного ответа зависела от стадии развития дрозофилы, подвергавшейся ударному воздействию: защита была максимальной у личинок и практически отсутствовала, если высокая доза мутагена применялась для обработки взрослых самцов. Таким образом, при изученных условиях адаптивный ответ обнаружен только у личинок дрозофилы.

© Н.В. САВИНА, О.В. ДАЛИВЕЛЯ, Н.В. НИКИТЧЕНКО,
Т.Д. КУЖИР, 2003

Введение. Известно, что предварительное слабое воздействие повышает резистентность про- и эукариотических клеток к эффектам биологически значимых доз того же экзогенного фактора. Это явление, открытое в 1977 г. у *E. coli* на примере действия алкилирующего агента N-метил-N'-нитро-N-нитрозогуанидина (МННГ) и получившее название «адаптивного ответа», наиболее детально изучено в связи с репарацией ДНК, прежде всего, с функционированием O⁶-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазы (МГМТ) [1–6]. Однако появляется все больше сведений об адаптивном ответе на разнообразные факторы как химической, так и физической природы, а также о перекрестной адаптации, вызванной одними агентами против других [7–12], что предполагает вовлечение менее специфических механизмов в этот защитный процесс.

Следует отметить, что адаптивный ответ слабо изучен на организменном уровне, несмотря на его очевидное значение для индивидуальной приспособленности к экологически неблагоприятным условиям. Практически отсутствуют данные об адаптивном ответе половых клеток, особенно против точковых мутаций, что представляет большой интерес как один из механизмов, препятствующих их распространению в популяции. Ранее нами исследовано влияние малых доз алкилирующего агента ЭМС при обработке взрослых особей (как самцов, так и самок) на биологическую эффективность этого мутагена в сперматозоидах дрозофилы и показано, что при данных экспериментальных условиях адаптивный ответ не наблюдается [13]. В рамках этой работы продолжено изучение адаптивного ответа половых клеток взрослых особей в связи с репарацией ДНК, а именно: исследовано влияние низких доз алкилирующих агентов на биологические эффекты высокой дозы ЭМС в зависимости от стадий сперматогенеза, резко различающихся по активности репарационных процессов. Для сравнения изучено влияние адаптирующей обработки личиночной стадии развития дрозофилы на проявление эффектов больших доз этого мутагена как у личинок, так и у имаго.

Материалы и методы. Для моделирования химического мутагенеза и адаптивного ответа применяли монофункциональные алкилирующие агенты этилметансульфонат (ЭМС, CAS №62-50-0S) и метилметансульфонат (ММС, CAS №66-27-3) фирмы «Sigma». Необходимые концентрации этих соединений получали

разведением либо в 1%-ном растворе сахарозы, либо в питательной среде. Для адаптирующей обработки взрослых особей и личинок использовали алкилирующие агенты в дозах, не превышающих 0,1 мМ, для ударной обработки личинок применяли ЭМС в дозе 1 мМ, тогда как ударные дозы этого мутагена для взрослых особей варьировали от 1 до 10 мМ.

Опыты проведены на *Drosophila melanogaster*, использованы линии *Berlin wild* (дикого типа) для отбора самцов и *Basc* (генотип $In(1) sc^{s1L}sc^{s8R} + S, sc^{s1}sc^{s8}w^{dB}$) для отбора виргинных самок. Ударному воздействию ЭМС подвергались самцы путем кормления взрослых особей раствором препарата в 1%-ной сахарозе [14] или кормлением личинок путем добавления препарата в питательную среду [15]. Эти варианты обработок в отсутствие других процедур соответствовали положительному контролю, тогда как кормление самцов 1%-ным раствором сахарозы либо выращивание на обычной питательной среде соответствовало спонтанному контролю.

Для изучения адаптивного ответа провели две серии опытов. В первой серии адаптирующему воздействию подвергали взрослых самцов дикого типа путем кормления 0,1 мМ раствором мутагена в течение 12 ч, после чего их обрабатывали ЭМС (10 мМ, продолжительность кормления варьировала от 12 до 21 ч). Между адаптирующим и ударным воздействиями половину самцов помещали в 1%-ный раствор сахарозы на 12 ч, тогда как остальных подвергали непрерывной обработке сначала малой дозой ЭМС или ММС, а затем высокой дозой ЭМС, т.е. в одном случае соблюдался, а в другом отсутствовал 12-часовой интервал между обработками. Самцов из контрольных и опытных групп спаривали с виргинными самками *Basc* в индивидуальных культурах при соотношении 5 ♀ × 1 ♂. В этой экспериментальной серии применяли метод перебросок самца к новым виргинным самкам каждые 2 сут для последовательного отбора мужских половых клеток, обработанных на разных стадиях сперматогенеза [16], при этом первая 2-суточная посадка соответствовала зрелым сперматозоидам, а четвертая и пятая — премейотическим стадиям сперматогенеза.

Во второй серии экспериментов адаптирующей обработке подвергали личинок *Berlin wild*, которые сначала развивались на обычной пита-

тельной среде, а по достижении 2-суточного возраста их переносили на среду, содержащую ЭМС в концентрации 0,05 мМ. Через 1 сут личинок отмывали и переносили на питательную среду, содержащую ударную дозу мутагена (в данном случае 1 мМ ЭМС). В этих культурах они оставались до окукливания и вылета имаго. Часть личинок, обработанных низкой дозой мутагена, после отмывки развивалась на обычной питательной среде, а ударному воздействию (дозами 1 или 5 мМ) подвергались уже взрослые самцы. Спаривание самцов с виргинными самками *Basc*, как и в предыдущей серии, проводили в индивидуальных культурах при строгом соблюдении соотношения 5 ♀ × 1 ♂.

В опытах учитывали: 1) стерильность родительских самцов по частоте полностью стерильных культур в F_1 ; 2) их фертильность по количеству вылупившихся потомков F_1 ; 3) доминантную летальность на эмбриональной и постэмбриональной стадии развития потомков F_1 , обусловленную разрывами хромосом в обработанных мутагеном половых клетках [16, 17]; 4) частоту рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций (РСПЛМ) в F_2 [16, 18]. Индивидуальный анализ мутабельности половых клеток каждого самца позволял учитывать кластеры мутаций, возникающие в результате мутагенной обработки премейотических стадий сперматогенеза [16]. Достоверность различий между вариантами оценивали по критерию χ^2 и тесту Сочгана (для частотных показателей), а также *t*-критерию Стьюдента (для абсолютных значений). Программы для компьютерного статистического анализа результатов разработаны ведущим научным сотрудником Института генетики и цитологии НАНБ, канд. биол. наук Б.Ю. Анощенко.

Результаты исследований и их обсуждение. Для индукции адаптивного ответа в половых клетках взрослых самцов применяли оба алкилирующих агента (ЭМС и ММС) в дозах 0,1 мМ, тогда как для ударной обработки использовали ЭМС в дозе 10 мМ. Как указывалось ранее, между этими обработками в некоторых вариантах соблюдался 12-часовой интервал. Предварительно проанализированы физиологические показатели. Стерильность самцов, обработанных ударной дозой ЭМС, поддерживалась на уровне спонтанного контроля, тогда как их предобработка малой дозой вызывала увеличение частоты стерильных



Рис. 1. Влияние ЭМС на физиологические показатели у самцов дикого типа при различных условиях воздействия. Стерильность самцов определяли по частоте стерильных культур F_1 , %, фертильность — по количеству потомков на культуру (абс. число): 1 — спонтанный уровень; 2, 3, 4 — ударная обработка взрослых самцов ЭМС в дозах 1, 5 и 10 мМ соответственно; 5 — вариант последовательного воздействия на имаго ЭМС в дозах 0, 1 и 10 мМ

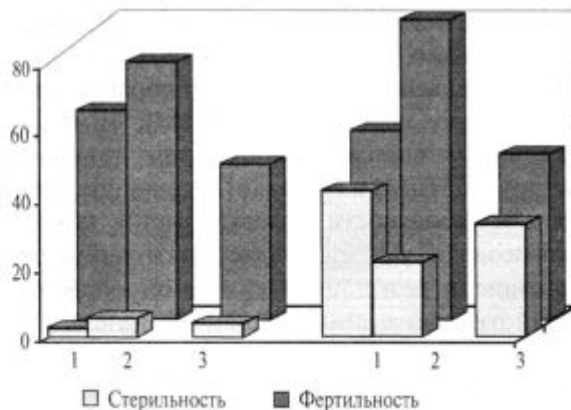


Рис. 2. Влияние ММС и ЭМС на физиологические показатели у самцов дикого типа в зависимости от стадий сперматогенеза и при различных условиях воздействия: 1 — обработка имаго ЭМС в дозе 10 мМ; 2 — обработка имаго ММС в дозе 0,1 мМ; 3 — вариант последовательного воздействия малой дозой ММС и большой дозой ЭМС; 1-я посадка соответствует ответу сперматозоидов, 5-я — ответу сперматогониев

культур при параллельном уменьшении количества потомков (рис. 1). Предварительная обработка такой же дозой ММС не вызвала столь явных изменений стерильности и фертильности самцов (рис. 2), однако оценка средней продукции потомков во всех проанализированных посадках (1-я, 4-я и 5-я) свидетельствует о снижении этого показателя после адаптивной обработки (40,21 без интервала или 42,01 с 12-часовым интервалом) по сравнению с ударным

воздействием (49,67). Сравнение проводилось по t -критерию, достоверные различия получены при $P < 0,01$.

Результаты анализа мутабельности половых клеток самцов дикого типа в зависимости от условий обработки алкилирующими агентами и стадии сперматогенеза представлены в табл. 1. Из литературы известно, что использованные для адаптирующей обработки дозы ЭМС и ММС (0,1 мМ) являются нетоксичными и практически немутагенными для взрослых особей [19–21]. Относительно ММС это подтверждается и в наших опытах. Чувствительность к мутагенам изменяется в зависимости от стадий сперматогенеза. Наиболее чувствительны к ЭМС сперматозоиды, что характерно и для других мутагенов прямого действия, тогда как уровень мутаций в премейотических клетках падает в 4–5 раз в связи с интенсивной репарацией ДНК именно на этих стадиях сперматогенеза [22, 23].

Из табл. 1 видно, что предобработка низкой дозой ЭМС не изменяет частоту мутаций, индуцированных в сперматозоидах большой дозой мутагена, независимо от того, соблюдался ли между адаптирующим и ударным воздействием 12-часовой интервал. Анализ результатов в сопряженных выборках по тесту Cochran (χ^2 -критерий) также демонстрирует отсутствие какого-либо влияния малой дозы ЭМС на мутабельность сперматозоидов, индуцированную ударным воздействием. В отличие от этого ММС в дозе, которая сама по себе не индуцирует мутаций, усиливает мутагенный эффект ЭМС и в сперматозоидах, и на премейотических стадиях. Потенцирующие эффекты примерно равнозначны при наличии и отсутствии 12-часового интервала между обработками, т.е., с одной стороны, не требуют для своей реализации какого-то промежутка времени, а с другой, поддерживаются по крайней мере в течение этого периода. Весьма интересно, что наблюдаемые частоты РСПЛМ существенно превышают аддитивное действие мутагенов, а потенцирующий эффект более выражен на премейотических стадиях.

Для сравнения проанализированы эффекты малых доз при других способах воздействия, а именно: сделана попытка индуцировать адаптивный ответ у личинок дрозофилы. В этой серии экспериментов адаптирующей обработке (0,05 мМ ЭМС) подвергалась личиночная стадия развития

дрозофилы, после чего отслежено ее влияние на эффекты биологически значимых доз мутагена как у личинок, так и имаго. Следует отметить, что воздействие на личинки ударной дозой ЭМС (1 мМ) вызывало ощутимое увеличение стерильности самцов (почти до 40 %), которая снижалась более чем в три раза под влиянием адаптирующей обработки личинок. Во всех других вариантах опыта этот показатель не отличался от спонтанного контроля. Параллельно изменялась плодовитость самцов, оцениваемая по количеству вылупившихся потомков F_1 ; при воздействии на личинки 1 мМ ЭМС их продукция составляла 12,2, а после адаптирующей обработки поднималась до 28,6, что практически соответствовало этому показателю у имаго (рис. 3).

На рис. 3 вместе с данными анализа плодовитости самцов показана летальность потомков

F_1 за весь период развития от яйца до имаго. На самом деле этот показатель анализировался на разных стадиях: эмбриональная летальность (ЭЛ) по частоте всех неразвившихся яиц, поздняя эмбриональная летальность (ПЛ) по частоте коричневатых яиц, отражающих гибель оплодотворенных яиц на более поздних стадиях эмбриогенеза [16, 24]; постэмбриональная летальность (ПЭЛ) по частоте погибших личинок и куколок относительно живых личинок [17] и суммарная летальность потомков (СЛ) относительно отложенных яиц.

Результаты, представленные в табл. 2, показывают, что, во-первых, ударная обработка личинок приводит к более высокой летальности потомков по сравнению с действием той же дозы мутагена на имаго и, во-вторых, адаптирующая обработка личинок существенно снижает по-

Таблица 1

Влияние предобработки взрослых самцов малыми дозами алкилирующих агентов на частоту ЭМС-индуцированных мутаций на разных стадиях сперматогенеза

Обработка мутагенами			Посадка	Количество проанализированных		Частота РСПЛМ, %	
0,1 мМ	Интервал между экспозициями, ч	ЭМС 10 мМ, ч		родительских самцов	хромосом	фактическая	теоретически ожидаемая
Спонтанный контроль			1	259	2798	0,32	—
Положительный контроль			1	40	876	17,71	—
			4–5	28	538	3,16*	—
—	—	21	1	61	785	21,91	—
ЭМС	—	21	1	40	242	23,97	—
—	—	12	1	71	1165	16,48	—
ЭМС	12	12	1	52	812	19,33	—
$z = 1,73$							
—	—	21	1	77	910	20,11	—
			4–5	63	1158	5,01*	—
MMC	—	—	1	78	877	0,57	—
			4–5	72	1408	0,36	—
MMC	—	21	1	78	796	25,87	20,67*
			4–5	72	1266	7,82*	5,37**
MMC	12	21	1	78	795	26,41	20,68*
			4–5	69	1198	7,43*	5,34**

* Достоверные различия между частотой мутаций в сперматозоидах и премейотических клетках ($P < 0,01$).

Достоверные различия между эмпирическими и теоретически ожидаемыми частотами в группах с адаптирующей обработкой MMC ($P < 0,05$).

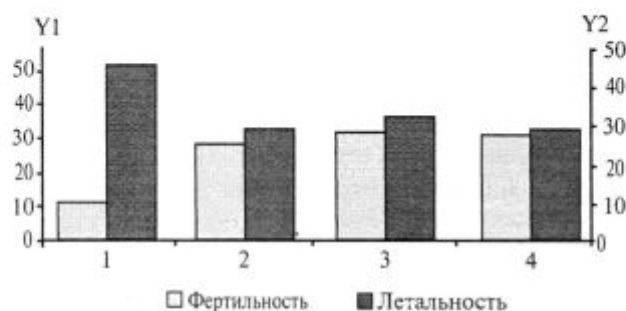


Рис. 3. Сравнение плодовитости самцов (Y_1 , абсолютные величины) и доминантной летальности (Y_2 , частота, %) при различных способах обработки дрозофилы этилметансульфонатом: 1 — ударная обработка личинок (1 мМ ЭМС); 2 — адаптирующая + ударная обработка личинок; 3 — ударная обработка имаго (5 мМ ЭМС); 4 — адаптирующая обработка личинок + ударная обработка имаго (5 мМ ЭМС)

вреждающие эффекты ЭМС. Характерно, что защитное действие проявляется по ЭЛ и ПЭЛ, достигая в сумме 65 %, тогда как при ударной обработке взрослых самцов адаптивный ответ выражен значительно слабее и определяется только по ЭЛ, которая может быть вызвана и генетическими, и физиологическими причинами, например, учетом неоплодотворенных яиц вместо погибших [16, 24].

Напомним, что после мутагенной обработки на стадиях личинок или имаго самцов спаривали с интактными самками Basc в индивидуальных культурах, что позволяло в одних и тех же семьях анализировать различные события в F_1 , а затем в

F_2 . Мутабельность половых клеток оценивали по частоте РСПЛМ, при этом кластеры мутаций, возникающих на премейотических стадиях, т.е. у личинок, а также в 4-й и 5-й посадках взрослых самцов, учитывали как одиночные события. В этой тест-системе одна и та же ударная доза ЭМС индуцировала больше мутаций у личинок, чем у имаго (табл. 3), что может указывать на гиперчувствительность личиночной стадии, однако, скорее всего, обусловлено поглощением большего количества мутагена. Обработка личинок дозой 0,05 мМ была фактически безопасна для личинок и существенно (более чем в два раза) снижала уровень мутабельности их половых клеток по сравнению с действием ударной дозы мутагена. Такая же адаптирующая обработка личинок оказалась неэффективной против мутаций, индуцированных высокими дозами мутагена у взрослых самцов.

Обсуждая представленные данные, нужно иметь в виду, что использованный в качестве основного мутагена ЭМС преимущественно вызывает точечные мутации [19, 25], а частота индуцированных РСПЛМ коррелирует с продукцией O^6 -этилгуанина [21], в репарации которого участвует МГМТ. Такой путь репарации вполне возможен и у дрозофилы, так как у нее были идентифицированы два протеина со сходными функциями, активные на всех стадиях развития, кроме эмбрионов [26]. Однако в отличие от продукта гена *ada* у *E. coli* деалкилирующие ферменты дрозофилы не индуцировались в ответ на

Таблица 2

Влияние адаптирующей обработки личинок на доминантную летальность потомков F_1 по сравнению с действием ударной дозы мутагена

Обработка ЭМС		Количество яиц	Доминантная летальность, %			
0,05 мМ	ударная доза		ЭЛ	ПЛ	ПЭЛ	СЛ
Ударная обработка личинок						
—	1мМ	1087	25,11	3,21	34,28	50,78
+	1мМ	1884	14,12*	4,49	22,31*	33,28*
Ударная обработка имаго						
—	5мМ	2181	14,53	3,3	25,11	36,00
+	5мМ	2003	7,74*	2,58	26,19	31,91*

* $P < 0.05$.

действие сублетальных доз МННГ. Известно также об определяющем вкладе эксцизионной репарации в исправление повреждений, вызванных алкилированием ДНК. Эта система наиболее эффективна против агентов I категории, преимущественно алкилирующих N-сайты [23], в первую очередь, против ММС и в меньшей степени против ЭМС. Заметим, что эксцизионная репарация нуклеотидов (NER) относится к наиболее распространенному и универсальному виду безошибочной репарации и, как правило, осуществляется конститутивными ферментами. Следовательно, оба наиболее подходящих пути безошибочной репарации (эксцизионная репарация на AP-сайтах, образовавшихся на месте выпадения N-алкилгуанина, и/или перенос алкил-радикала из ДНК на цистеиновый остаток алкилтрансферазы), не будучи индуцибельными, по-видимому, не могут обеспечить адаптивный ответ у дрозофилы.

Это предположение вполне согласуется с данными, полученными ранее при изучении влияния малых доз ЭМС (0,05–0,1 мМ) на эффект материнской репарации [13], а также с результатами сравнительного изучения мутабельности половых клеток на разных стадиях сперматогенеза. В данной экспериментальной серии адаптивный ответ не наблюдался ни в репарационно-инертных сперматозоидах, ни в репарационно-активных премейотических клетках. Более того, малые дозы ММС усиливали мутагенное действие ЭМС.

В отличие от этого адаптивный ответ успешно индуцировался у личинок дрозофилы. Следует напомнить, что в онтогенезе самцов первое мейотическое деление происходит обычно в момент окукливания [24], т.е. воздействию малой дозы ЭМС так же, как и у взрослых особей в 4-й и 5-й посадках, подвергались премейотические половые клетки. Несоответствие результатов, полученных в двух экспериментальных сериях, заставляет предположить, что в адаптивный ответ личинок на алкилирующие агенты могут быть вовлечены не только репарационные, но и другие механизмы, так как именно на личиночной стадии развития активность всех метаболических процессов, включая биотрансформацию ксенобиотиков, наиболее высока.

Известно, что детоксикация ЭМС происходит путем его спонтанной или энзиматической

Таблица 3
Влияние адаптирующей обработки личинок на частоту мутаций, индуцированных ударной дозой ЭМС у личинок и взрослых особей

Обработка ЭМС			Количество проанализированных		Частота РСПЛМ, %
0,05мМ, 24 ч	интервал между обработками	ударная доза	родительских самцов	хромосом	
Спонтанный контроль			44	1125	0,27
Ударная обработка личинок					
+	—	—	42	1070	0,56
—	—	1 мМ	30	382	3,93
+	—	1 мМ	125	1614	1,69*
Ударная обработка имаго					
—	Куколичная стадия	1 мМ	48	1314	1,75
+	То же	1 мМ	52	1501	1,47
—	*	5 мМ	94	534	6,46
+	*	5 мМ	82	914	6,89

* $P < 0,05$ (по критерию χ^2).

конъюгации с восстановленным глутатионом [27, 28]. Одним из важнейших ферментов, участвующих в этом процессе, равно как и в детоксикации других электрофильных молекул, является глутатион-S-трансфераза [29, 30]. В контексте этого сообщения очень важно, что этот фермент обнаружен у дрозофилы [31], но вместе с тем известно, что комплекс глутатион-S-трансфераз индуцируется в клетках различных организмов в ответ на слабые воздействия электрофилов [30], т.е. способен функционировать по типу адаптивного ответа. Интересно также, что глутатион-S-трансферазы наряду с другими нуклеофильными компонентами осуществляют антиоксидантную защиту внутри и вне клеток против реактивных радикалов кислорода (РРК), образующихся в ходе нормального метаболизма и многих патологических процессов, а также в результате действия внешних прооксидантных факторов, включая ионизирующую радиацию [30, 32]. Вероятно, запуск этого механизма может обеспечить адаптивный ответ против электрофильных молекул и РРК различного происхож-

дення, а також перекрестну адаптацію против ряду химических агентов и ионизирующих излучений *in vitro* и *in vivo*.

Таким образом, в опытах на дрозофиле показано, что предобработка самцов имаго низкими дозами алкилирующих агентов либо не изменяет, либо усиливает эффекты биологически значимых доз как в зрелых половых клетках, так и на премейотических стадиях сперматогенеза. Малые дозы ЭМС индуцируют адаптивный ответ на последующее действие более высоких доз этого мутагена у личинок, причем хорошо выраженный защитный эффект наблюдается по всем анализируемым параметрам: плодовитости самцов, эмбриональной и постэмбриональной летальности, частоте рецессивных сцепленных с полом летальных мутаций. Эта защитная реакция ограничена личиночной стадией развития дрозофилы и не распространяется на взрослых самцов. Выявленные закономерности позволяют предположить, что по крайней мере при изученных условиях адаптивный ответ обусловлен не только репарацией ДНК, но и запуском других механизмов, возможно, связанных с детоксикацией алкилирующих агентов.

SUMMARY. The low dose (0.05–0.1 mM) influence of alkylating agents on germ cell survival and male fertility, the level of embryonic and postembryonic lethality as well as the sex-linked recessive lethal (SLRL) frequency induced by high alkylating agent doses was studied in *Drosophila melanogaster*. The pretreatment of adult males with low doses of methyl and ethyl methanesulfonate (MMS and EMS) did not change or even enhanced EMS cytotoxicity and mutagenicity in both mature sperm and premeiotic cells. On the contrary, the low EMS dose pretreatment of larvae protected them against higher mutagen doses increasing male fertility, decreasing embryonic and postembryonic lethality in F_1 , and leading to threefold reduction in the SLRL frequency in F_2 . The adaptive response was dependent on the *Drosophila* developmental stage exposed to challenge mutagen doses, since the protection was maximal in larvae and practically absent when the high dose was administered to adult males. The adaptive response observed does not seem to be associated with DNA repair, but it is rather due to other protective mechanisms.

РЕЗЮМЕ. Досліджено вплив малих доз алкілюючих агентів (0,05–0,1) на виживання статевих клітин і плідність особин, рівень ембріональної та постембріональної летальності, а також частоту рецесивних зчеплень із статтю летальних мутацій, що індуковані високими дозами мутагенів у *Drosophila melanogaster*. Передобробка дорослих самців низькими дозами метил- та етилметилсульфонату (ММС, ЕМС) не впливала або навіть посилювала цитотоксичні та мутагенні ефекти останнього як у зрілих

статевих клітинах, так і на премейотичних стадіях сперматогенеза. На відміну від цього передобробка личинок низькими дозами ЕМС захищала їх від дії більш високих доз, що істотно підвищувало плідність самців, знижувало ембріональну і постембріональну летальність в F_1 , призводила до понад двократного зменшення частоти мутацій в F_2 . Ступінь виявлення адаптивної відповіді залежав від стадії розвитку дрозофіли, що піддавалась ударному впливу, оскільки захист був максимальним у личинок і практично відсутнім, якщо висока доза мутагена використовувалась для обробки дорослих самців. Таким чином, при вивчених умовах адаптивна відповідь знайдена тільки у личинок дрозофіли.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Samson L., Cairns J. A new pathway for DNA repair in *Escherichia coli* // Nature (London). — 1977. — 267. — P. 281–283.
2. Jeggo P. Isolation and characterization of *Escherichia coli* K-12 mutants unable to induce the adaptive response to simple alkylating agents // J. Bacteriol. — 1979. — 139. — P. 783–791.
3. Karran P., Lindahl T., Griffin B. Adaptive response to alkylating agents involves alteration in situ of O⁶-methylguanine residues in DNA // Nature. — 1979. — 280. — P. 76–77.
4. Robins P., Cairns J. Quantitation of the adaptive response to alkylating agents // Nature. — 1979. — 280, № 5717. — P. 74–76.
5. Olsson M., Lindahl T. Repair of alkylated DNA in *Escherichia coli*. Methyl group transfer from O⁶-methylguanine to a protein cysteine residue // J. Biol. Chem. — 1980. — 255. — P. 10569–10571.
6. Day III R.S., Sibghat-Ullah, A. Rasouli-Nia. Damage reversal in human cells: cellular response to O⁶-methylguanine // J.-M. H. Vos (Ed.). DNA Repair Mechanisms. Impact on Human Diseases and Cancer. — New York etc: Springer-Verlag, 1995. — P. 67–97.
7. Laval F., Laval J. Adaptive response in mammalian cells: Crossreactivity of different pretreatments on cytotoxicity as contrasted to mutagenicity // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1984. — 81. — P. 1062–1066.
8. Wang Z.-Q., Saigusa S., Sasaki M.S. Adaptive response to chromosome damage in cultured human lymphocytes primed with low doses of X-rays // Mutat. Res. — 1991. — 246. — P. 179–186.
9. Laval F. Pretreatment with oxygen species increases the resistance of mammalian cells to hydrogen peroxide and gamma-rays // Mutat. Res. — 1988. — 201. — P. 73–79.
10. Wolff S., Afzal V., Wiencke J.K., Olivieri G., Michaeli A. Human lymphocytes exposed to low doses of ionizing radiation become refractory to high doses of radiation as well as to chemical mutagens that induce double-strand breaks in DNA // Int. J. Radiat. Biol. — 1988. — 53. — P. 39–48.
11. Ikushima T. radio-adaptive response: characterization of a cytogenetic repair induced by low-level ionizing radiation in cultured Chinese hamster cells // Mutat. Res. — 1989. — 227. — P. 241–246.
12. Vijayalaxmi and W. Burkart. Resistance and cross-resistance to chromosome damage in human blood lymphocytes adapted to bleomycin // Mutat. Res. — 1989. — 211. — P. 1–5.

13. Кужир Т.Д., Даливеля О.В., Савина Н.В. Модификация процессов репарации при химическом мутагенезе у *Drosophila melanogaster*. // Генетика. — 1999. — 35, № 7. — С. 919–924.
14. Lewis E.B., Bacher F. Method of feeding ethyl methane-sulfonate (EMS) to *Drosophila* males // *Dros. Inf. Serv.* — 1968. — 43. — P. 193.
15. Kaya B., Creus A., Velázquez A., Yanikoplu A., Marcos R. Induction of an adaptive response in *Drosophila* imaginal disc cells exposed in vivo to low doses of alkylating agents // *Mutagenesis*. — 2000. — 15. — P. 337–340.
16. Würzler F.E., Sobels F.H., Vogel E. *Drosophila* as an assay system for detecting genetic changes // B.J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols, C. Ramel (Eds). *Handbook of mutagenicity test procedures*. — Amsterdam : Elsevier, 1984. — P. 555–601.
17. Mucoz E.R., Barnett B.M. Embryonic and post-embryonic lethals induced by diethyl sulfate in mature sperm of *Drosophila melanogaster* // *Mutat. Res.* — 1978. — 51. — P. 37–44.
18. Lee W.R., Abrahamson S., Valencia R., Von Halle E.S., Würzler F.E., Zimmering S. The sex-linked recessive lethal test for mutagenesis in *Drosophila melanogaster*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox. Program // *Mutat. Res.* — 1983. — 123. — P. 183–279.
19. Vogel E., Natarajan A.T. The relation between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in higher eukaryotic systems. 1. Recessive lethal mutations and translocations in *Drosophila* // *Mutat. Res.* — 1979. — 62. — P. 51–100.
20. Lee W.R., Beranek D.T., Byrne B.J. Dosage-response relationships for methyl methanesulfonate in *Drosophila melanogaster* spermatozoa: DNA methylation per nucleotide vs. sex-linked recessive lethal frequency // *Mutat. Res.* — 1989. — 211. — P. 243–257.
21. Lee W.R., Beranek D.T., Byrne B.J., Tucker A.B. Comparison of dose-response relationships for ethyl methanesulfonate and 1-ethyl-1-nitrosourea in *Drosophila melanogaster* spermatozoa // *Mutat. Res.* — 1990. — 231. — P. 31–45.
22. Vogel E.W., Dusenbery R.L., Smith P.D. The relationship between reaction kinetics and mutagenic action of monofunctional alkylating agents in higher eukaryotic systems. 4. The effects of the excision-defective mei-9L1 and mus(2)201D1 mutants on alkylation-induced genetic damage in *Drosophila* // *Mutat. Res.* — 1985. — 149. — P. 193–207.
23. Vogel E., Natarajan A.T. DNA damage and repair in somatic and germ cells in vivo // *Mutat. Res.* — 1995. — 330. — P. 183–208.
24. Литвинова Е.М. Биология размножения у дрозофилы // Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. — Новосибирск : Наука, 1977. — С. 19–61.
25. Sega G.A. A review of the genetic effects of ethyl methanesulfonate // *Mutat. Res.* — 1984. — 134. — P. 113–142.
26. Guzder S.N., Kelley M.R., Deutsch W.A. *Drosophila* methyltransferase activity and the repair of alkylated DNA // *Mutat. Res.* — 1991. — 255. — P. 143–153.
27. Roberts J.J., Wazwicz G.P. Studies on the mode of action of tumor-growth-inhibiting alkylating agents. 1. The fate of ethyl methanesulfonate («half-muleran») in the rat // *Biochem. Pharmacol.* — 1985. — 1. — P. 60–67.
28. Teaf C.M., Raymond R.D., Bishop J.B. Germ-cell mutagenesis and GSH depression in reproductive tissue of the F-334 rat induced by ethyl methanesulfonate // *Mutat. Res.* — 1985. — 144. — P. 93–98.
29. Ketterer B., Meyer D.J. Glutathione transferases: A possible role in the detoxication and repair of DNA and lipid hydroperoxides // *Mutat. Res.* — 1989. — 214. — P. 33–40.
30. Ames B.N., Gold L. S. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer // *Mutat. Res.* — 1991. — 250, № 5. — P. 3–16.
31. Parkes T.L., Hilliker A.J., Phillips J.P. Genetic and biochemical analysis of glutathione-S-transferase in the oxygen defense system of *Drosophila melanogaster* // *Genome*. — 1993. — 36. — P. 1007–1014.
32. Anderson D. Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage // *Mutat. Res.* — 1996. — 350. — P. 103–108.

Поступила 11.03.02