

УДК 575.224:616-006.2:595.773.4

ГАПЛОАДАПТИВНОСТЬ ОПУХОЛЕВОГО СУПРЕССОРА *lgl* И ОНТОГЕНЕЗ У *D. melanogaster*: ПОВЫШЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ И ДЛИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ В УСЛОВИЯХ СТРЕССА¹

© 2007 г. Н. Я. Вайсман, Н. Плюс**, М. Д. Голубовский*

Институт цитологии и генетики СО РАН

630090 Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, д. 10

*Центр демографических исследований, Дьюк-Университет, США
Center for Demographic Studies, Duke University, 2117 Campus Drive, Durham, USA

**30380 St. Christol, Les-Ales, France

E-mail: weisman@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 13.10.05 г.
Окончательный вариант получен 13.02.06 г.

*Авторы посвящают свое исследование
светлой памяти Ксении Борисовны Соколовой*

Мутации опухолевого супрессора *lgl* вызывают нейробластому и злокачественную трансформацию эпителиальных личиночных тканей дрозофилы. Ранее авторы показали, что гетерозиготы по летальному нулевому вариантам *lgl/+* широко распространены в природных популяциях. Для выяснения этого парадокса проанализировали параметры биологической приспособленности носителей одной дозы опухолевого супрессора. Изучали характер эмбриональной выживаемости особей *lgl/+* в условиях конкуренции за жизненные ресурсы и развития при повышенной и пониженной температурах (29° и 16°C); влияние на продолжительность жизни стрессовых термальных условий; влияние на жизнеспособность потомства F1 кратковременного температурного стресса в предзиготический период в ходе оогенеза самок-родителей; степень устойчивости к инфекционному РНК-содержащему вирусу DCV гетерозигот по разным природным летальным аллелям *lgl*. Утрата одной дозы опухолевого супрессора *lgl* обеспечивала гетерозиготам *lgl/+* повышенную выживаемость и продолжительность жизни при стрессовых воздействиях. Установленный феномен назван гаплоадаптивностью. Выявлены важные особенности адаптогенеза у гетерозигот *lgl/+*: зависимость от материнского генотипа и критические периоды в ходе развития. Показано, что детерминация свойства повышенной выживаемости потомков F1 происходит уже в ходе раннего оогенеза их матерей *lgl/+*, на стадии проэмбрио. Применительно к человеку этот вывод заставляет обратить особое внимание на оогенезозависимый трансгенерационный аспект детерминации и проявления мутантных факторов риска, включая супрессоры опухолей. Полученные данные важны для понимания причин распространения в популяциях человека нулевых вариантов по генам, связанным с развитием множественных патологий, включая рак.

Ключевые слова: супрессор опухоли, гаплоадаптивность, стресс, дрозофила.

В функционировании генома в ходе онтогенеза у диплоидных многоклеточных организмов ярко проявляется феномен регуляций, зависимых от дозы гена: сайленсинг, детерминация пола, компенсация дозы гена. В случае импринтинга нормальный онтогенез возможен только в том случае, если в определенном месте и на определенной стадии будет выключен либо материнский, либо отцовский импринтируемый аллель. Иными словами, функциональное гаплосостояние по некоторым локусам есть условие нормального развития.

Для мутаций ряда жизненно важных генов обнаружен феномен гаплонедостаточности, когда одна доза нормального аллеля у гетерозигот по нулевым вариантам или делециям не способна полностью обеспечить нормальное развитие. Гаплонедостаточность выявлена прежде всего для генов, продукты которых образуют полипептидные комплексы и регулируют жизненно важные функции: транскрипцию, сигнальные пути, репарацию ДНК, ремоделирование структуры хромосом, клеточный цикл. Эффект гаплонедостаточности характерен и для большинства опухолевых супрессоров (Santarosa, Ashworth, 2004). Во всех этих случаях изменение генной дозы одного ком-

¹ Работа частично поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 05-04-48838) и Дьюк-Университетом, США (№ K12 NIH).

понента способно существенно влиять на стехиометрический состав и синергетические функции всего комплекса и приводить к аномалиям. По этой причине анеуплоидия обычно вызывает более сильную дерегуляцию, чем полиплоидия, а лишние порции локусов, введенные в геном, тут же подвергаются глушению или сайленсингу (Veitia, 2002; Birchler et al., 2005).

Однако в некоторых случаях возможны и парадоксальные ситуации, когда адаптивный баланс сдвигается в сторону гетерозигот по нулевым вариантам. Такие случаи в последние годы обнаружены в отношении генов, повышающих продолжительность жизни (ПЖ) и устойчивость к стрессу. Например, у дрозофилы летальные в гомозиготе нуль-варианты гена *mth* (*Methuselah*) в гетерозиготе *mth/+* на 25–30% увеличивают продолжительность жизни: как если бы две нормальные дозы были избыточными и превышали желаемый оптимум (Lin et al., 1998). Сходным образом гаплоадаптивность в отношении длительности жизни найдена у гетерозигот по летальному варианту гена *Indy* (Rogina et al., 2000; Булгакова и др., 2004).

Анализ этого феномена важен для понимания гетерозиготного популяционного полиморфизма в популяциях человека по мутациям генов риска, ответственных за предрасположенность к мультифакторным заболеваниям, включая рак. Особенно загадочным представляется гетерозиготный полиморфизм по делеционным и нулевым аллелям ряда жизненно важных генов. Так, ген *GSTM1* контролирует образование фермента глутатион S-трансферазы, который играет ключевую роль в детоксикации антибиотиков. В частности, он обеспечивает устойчивость к свободным радикалам, окисному окислению жиров, алкилированию белков и мутагенную устойчивость ДНК. Гомозиготность по нулевому варианту *GSTM1*0/*0* является фактором риска и связана с повышенной чувствительностью к разным формам рака, сердечно-сосудистым и другим мультифакторным заболеваниям. При ингибировании активности *GSTM1* сперматозоиды утрачивают способность к нормальной акросомной реакции. Нулевой аллель, вызванный делецией в 10 000 н.п., вообще не образует РНК и белка (Баранов и др., 2000). Однако в популяциях человека гомозиготы **0/*0* встречаются с высокой частотой, например в российской популяции их около 42% (Хавинсон и др., 2002; Горбунова и др., 2003).

Феномен гаплоадаптивности следует отличать от сходного явления сверхдоминирования, когда функционально активны оба аллеля, и при этом мутантный аллель повышает адаптивность в определенных стрессовых условиях. Такова известная ситуация в малярийных районах с защитным эффектом летального в гомозиготе аллеля

Hb-S (серповидноклеточность) гемоглобинового гена. Другой пример – широкое распространение в европейских популяциях полиморфизма по делеции в 32 н.п. внутри гена *CCR* (рецептор хемокининов на поверхности макрофагов и Т-лимфоцитов): гомозиготы *del32/del32* по этой делеции в европейских популяциях встречаются с частотой в 1% и устойчивы к ВИЧ-инфекции (Баранов и др., 2000).

Прямые экспериментальные подходы к изучению загадки делеционного полиморфизма (или гетерозиготности по нулевым вариантам гена) возможны, естественно, лишь на модельных объектах. Здесь можно исследовать, не станет ли для организма адаптивной в определенных условиях гетерозиготность по утрате одной дозы жизненно важного гена. И если ответ “да”, то каковы эти условия. Этой проблеме посвящена наша работа на примере анализа онтогенетических последствий утраты дозы опухолевого супрессора *lgl* у дрозофилы. Работа экспериментально связывает проблемы онкогенеза с генетикой популяций.

Онкогенное действие гена *l(2)gl* или просто *lgl* (*lethal giant larva*) было обнаружено Гатефф в конце 1960-х гг. (Gateff, Shneiderman, 1969; Gateff, 1978). Это был первый случай открытия опухолевого супрессора у животных (Bildler, 2004). С тех пор изучение действия *lgl* служит прекрасной молекулярной моделью для анализа тканевых, организменных и клеточно-молекулярных аспектов канцерогенеза. Продукт *lgl* – цитоплазматический белок – играет ключевую роль в установлении клеточных контактов, полярности и тканевой архитектуры эпителиальных клеток. Ген *lgl* эволюционно консервативен, его функциональные взаимозаменяемые ортологи найдены в геноме человека (*Hugl-1*, *Human giant larvae*), у других видов млекопитающих и дрожжей (Terpass et al., 2001; Bildler, 2004; Brumby, Richardson, 2005).

Трансгенез одной нормальной копии опухолевого гена-супрессора *Hugl-1* человека мутантным гомозиготам *lgl/lgl* дрозофил купирует неоплазию и спасает мух от летального эффекта (Grifoni et al., 2004). Мутации *Hugl-1* приводят к опухолям-карциномам у человека. Утрата способности к транскрипции *Hugl-1* обнаружена в 75% случаев агрессивных солидных человеческих опухолей кишечника и простаты (Schimanski et al., 2005). Аналогичный эффект у человека оказывает мутантное состояние и утрата транскрипции известного опухолевого супрессора *p53* (Tuner et al., 2002).

На фоне данных о жизненной важности опухолевого супрессора *lgl* вызывает удивление обнаруженное нами в 1970-х гг. повсеместное распространение летальных аллелей *lgl* в географически удаленных друг от друга популяциях

D. melanogaster – на территориях Украины, Кавказа, Средней Азии, Дальнего Востока. В среднем одна из каждых 25–50 особей гетерозиготна по мутации *lgl* (Golubovsky, 1980). Все тестированные аллели *lgl* вызывают в гомозиготе раковую трансформацию клеток имагинальных дисков и мозга (Gateff et al., 1977). Молекулярный анализ выделенных нами из природных популяций летелей *lgl* неожиданно показал, что они представляют собой в большинстве случаев делеции гена, а иногда – инсерции мобильного элемента с полной утратой функции *lgl* (Mechler et al., 1985). Локус *lgl* примыкает к теломере 2L плеча, и часть делеций, начинаясь от *lgl*, захватывает и район теломеры (Golubovsky et al., 2001).

В нашей работе суммированы некоторые полученные нами ранее и новые данные о влиянии уменьшения дозы опухолевого супрессора на разные параметры биологической адаптации. Показано, что утрата одной дозы гена *lgl* повышает приспособленность гетерозигот *lgl/+* к самым разным стрессовым условиям. Установлены важные особенности адаптогенеза у гетерозигот *lgl/+*: зависимость от материнского генотипа и критический период в ходе развития. Показано, что детерминация свойства повышенной выживаемости потомков F1 происходит еще в ходе раннего оогенеза их матерей *lgl/+*, на стадии проэмбрио. Тем самым выявляется эпигенетический эффект изменения дозы гена *lgl*. Подобные эффекты впервые были обнаружены и исследованы в классических опытах Светлова с соавт. (Светлов, Корсакова, 1967; Svetlov, Korsakova, 1975; Соколова, 1998). Применительно к человеку этот вывод заставляет обратить особое внимание на оогенезозависимый трансгенерационный аспект детерминации и проявления мутантных факторов риска, включая супрессоры опухолей, ибо у человека образование женских гамет для поколения F(n+2) начинается еще в поколении F(n), т.е. на ранних стадиях беременности у бабушек (Golubovsky, Manton, 2005).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Оценка действия на жизнеспособность (ЖСП) в условиях температурного стресса гетерозиготности по *lgl*. Изучали действие двух летальных аллелей *lgl558* и *lgl705*, выделенных в 1967 г. из популяции г. Умани (Украина). ЖСП особей *lgl/+* оценивали как популяционно-генетический параметр – успех в конкуренции за жизненные ресурсы по сравнению с особями, свободными от летали. Каждую из двух мутантных гетерозиготных линий *lgl558/Cy* и *lgl705/Cy* (где *Cy* – доминантный маркер *Curly* в хромосоме, свободной от летали) скрещивали реципрокно с нормальной лабораторной линией *+/+*, *CantonS* (*CS*) из фонда Института цитологии и генетики СО

РАН. Контролем служило расщепление в потомстве F1 от скрещивания *+/Cy* × *+/+* (ожидаемое расщепление: по 50% *Cy* и *+*).

После 6-часовой кладки часть стаканов с отложенными яйцами сразу ставили в опыт при постоянных температурах 25 и 29°C. Другую часть использовали в опыте при пониженной температуре 16°C, который проводили в следующей модификации: применяли воздействие холодом на развивающиеся культуры только в течение 1–2 сут после кладки яиц. Затем культуры переносили в 25°C, где проходило последующее развитие. Основанием для этой модификации служили полученные ранее данные, что именно ранние стадии развития гетерозигот по летали чувствительны к холоду (Соколова, Голубовский, 1979б).

Анализ действия кратковременного теплового шока на стадии проэмбрио носителей мутации *lgl* на ЖСП их потомства *lgl/+* проводили на основании классических работ Светлова (Светлов, Корсакова, 1967; Svetlov, Korsakova, 1975) и новых данных о том, что один из критических периодов действия гена *lgl* в онтогенезе – стадия формирования структуры фолликулярного эпителия и его контактов с яйцеклеткой (Manfruelli et al., 1996; de Lorenzo et al., 1999). Воздействовали в течение 3 ч повышенной температурой 29°C на 1–2 суточных девственных самок *lgl558/Cy*, *lgl705/Cy* и *+/+* (*CS*). После теплового шока стрессированных самок использовали в двух типах скрещиваний: 1) матери с одной дозой нормального аллеля *lgl* – ♀ *lgl558/Cy* × ♂ *+/+*; ♀ *lgl705/Cy* × ♂ *+/+*; и 2) матери с двумя дозами нормального аллеля ♀ *+/+* (*CS*) × ♂ *lgl558/Cy*. Родителей пересаживали на свежий корм для откладки яиц каждые 2–3 сут, и в каждом варианте F1 оценивали ЖСП. Относительную жизнеспособность оценивали с помощью критерия однородности для четырехпольных таблиц (Фишер, 1958).

Определение продолжительности жизни (ПЖ) гибридного потомства F1. В первой серии экспериментов по определению ПЖ гибридное потомство от реципрокных скрещиваний линий *lgl558/Cy* и *CS* выращивали до вылета имаго при нормальной температуре 25°C. Самок и самцов каждого генотипа из F1 (*lgl/+*, *Cy/+*) и контроля (*+/+*, *y*; *+/+* из F1 от скрещивания *+/+(CS)* × *+/+*, *y*) сразу после вылета помещали отдельно по 200–300 животных в термостаты с постоянной температурой 16, 25 и 29°C. Через каждые 3 сут мух пересаживали на свежий корм.

В связи с существованием критических периодов для активности гена *lgl* в раннем эмбриогенезе и на стадии личинки третьего возраста (Соколова, 1998; Соколова, Голубовский, 1979 б) интересно было изучить, как температурный стресс во время развития гибридов F1 влияет на их ПЖ в стрессовых условиях. Для этого во второй серии

Таблица 1. Сравнение относительной жизнеспособности в потомстве F1 гетерозигот *lgl/+* при разных температурах с контролем *+/+* (принято за 100%)

Генотип	Жизнеспособность, %/численность потомства при температуре, °С		
	25	29	16
<i>lgl558/+</i>	98.4/10906	108.6/7576*	103.9/6548
<i>+/lgl558</i>	96.2/2484	106.3/1662*	107.2/2825*
<i>lgl558/+**</i>	92.0/2680*	102.8/2894	104.9/2443
<i>lgl705/+</i>	94.8/4923*	110.2/2869*	94.7/1189
<i>lgl705/+**</i>	89.9/2412*	103.4/2242	99.0/2314

* Достоверность отличий $p = 0.05$; ** данные из: Соколова, Голубовский, 1979а.

опытов потомство F1 от реципрокных скрещиваний линий *558lgl/Cy* и *CantonS* выращивали при 29°C. Затем помещали имаго, самцов и самок F1,

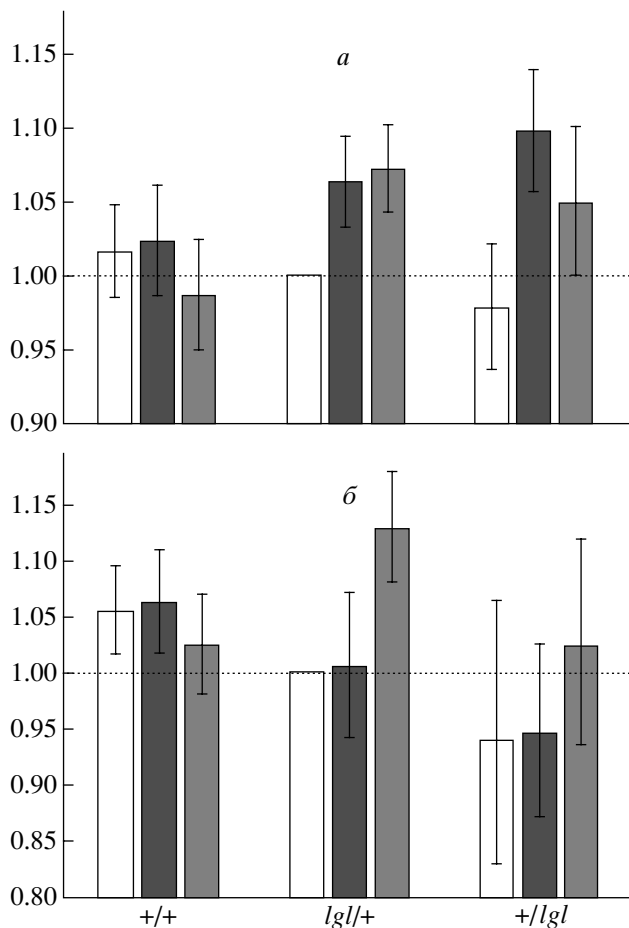


Рис. 1. Увеличение жизнеспособности в условиях стрессовых температур у гетерозигот: *a* – *lgl558/+*; *б* – *lgl705/+* ($p = 0.05$). По оси абсцисс – генотипы групп дрозофил; по оси ординат – отношение к доле мух *lgl/+* при 25°C. Температура, °С: (□) – 25, (■) – 16, (▒) – 29.

в термостаты с неблагоприятной температурой 29°C и измеряли у них ПЖ.

*Измерение устойчивости гетерозигот *lgl/+* к РНК-содержащему вирусу DCV.* Изучали устойчивость делеционных гетерозигот *lgl/+* к DCV в генотипах с 15 аллелями *lgl*. Устойчивость к вирусу измеряли как смертность, выраженную в %, через 8 сут после введения стандартной разбавленной суспензии вируса путем инъекций 50 безвирусным особям. В контрольной линии Шампетьер (*Champetieres*) 84–98% инъецированных особей *+/+* погибли через 3–4 сут.

Все изученные мутантные аллели *lgl* выделены из разных диких популяций.

РЕЗУЛЬТАТЫ

*Жизнеспособность гетерозигот *lgl/+* в условиях температурного стресса.* Как следует из табл. 1, при оптимальной температуре 25°C ЖСП *lgl*-гетерозигот по обеим летелям отличается незначительно или существенно снижается по отношению к контролю. В условиях развития при температурном стрессе (29 и 16°C) ЖСП *lgl/+* возрастает на 6–10%. Значения ЖСП в поколениях F1 зависят от направления скрещиваний. Потомки матерей, гетерозиготных по *lgl*, показывают наибольшую устойчивость к действию термального стресса (рис. 1).

*Кратковременный тепловой стресс на стадии проэмбрио материнских особей и его влияние на жизнеспособность потомства *lgl/+* F1.* Как видно из табл. 2, в обеих мутантных линиях *lgl558* и *lgl705* обнаружено последствие кратковременного теплового стресса в ходе оогенеза. Наиболее чувствительны ранние стадии формирования яйцеклетки (8–11 и 6–8 сут до откладывания яиц). В потомствах, подвергнутых температурному шоку гамет самок *+/+* (CS), уровни ЖСП генотипа *+/lgl* в F1 варьируют, но достоверно не отличаются друг от друга и от контроля при постоянной температуре 29°C.

*Устойчивость гетерозигот *lgl/+* к заражению РНК-содержащим вирусом DCV.* Каждый вид в природе испытывает жесткий стресс вирусных агентов. Присутствие вирусов и устойчивость к ним в природных популяциях *D. melanogaster* – компонент общего генетического полиморфизма. РНК-содержащий вирус DCV обнаружен Плюс (Plus et al., 1975) во многих природных популяциях и лабораторных линиях. Среди изученных 15 гетерозигот *lgl/+* большинство имело повышенную устойчивость к DCV, среди них: *lgl*-аллели 138, 258, 353 и 104 (Умань, Украина); Сд88 (Дальний Восток); 802 и 432 (Армения); а некоторые делеционные варианты обеспечивали гетерозиготам относительную устойчивость. Например, смертность гетерозигот *lgl432/+* со-

Таблица 2. Влияние кратковременного температурного стресса 29°C на стадии проэмбрио материнских особей *lgl/+* на жизнеспособность *lgl*-носителей в F1

Скрещивание	Стадии воздействия F0	Жизнеспособность, %	Число F1
♀ <i>lgl558/Cy</i> × +/+	Зрелые ооциты	47.9	1990
	Ранние ооциты	53.3*	2329
♀ <i>lgl705/Cy</i> × +/+	Зрелые ооциты	47.7	604
	Ранние ооциты	58.4*	835
♀ +/+ × <i>lgl558/Cy</i>	Зрелые ооциты	50.8	1381
	Ранние ооциты	53.9	993

* Достоверность отличий $p = 0.05$.

ставляла всего 17–26% против 84–98% в восьми контрольных группах (Plus, Golubovsky, 1980).

Три серии опыта привели к следующим выводам: а) устойчивость выше в потомстве самок-носителей одной дозы опухолевого супрессора; б) животные F1 имеют уровень устойчивости к вирусу, промежуточный по сравнению с устойчивостью родителей (табл. 3); в) если оба родителя несут делеционный аллель *lgl432*, то повышается устойчивость всего потомства F1 (Plus, Golubovsky, 1980).

Продолжительность жизни в условиях стресса особей lgl/+. Опухолевый супрессор *lgl* в гетерозиготном состоянии продлевает жизнь его носителям в условиях стрессовых температур – 16 и 29°C. Влияние на ПЖ у потомков F1 зависит от направления скрещивания. В нормальных температурных условиях значения средней и максимальной ПЖ для двух классов самок *lgl/+* и *Cy/+* от прямого скрещивания ниже, чем в реципрокном скрещивании и контроле. При 29°C наибольшими становятся оба показателя ПЖ у самок от матерей с одной дозой нормального аллеля *lgl/+*. В потомстве от гетерозиготных по летали матерей ПЖ возрастает не только у мух *lgl/+*, но и у особей другого генотипа *Cy/+*. Еще больший отрыв данных у прямых гибридов от других генотипических классов при повышенной температуре существования наблюдается у самцов (табл. 4). Динамика смертности гетерозиготных самок и самцов *lgl/+*, возникших от мутантных матерей, существенно отличается от реципрокного скрещивания; для них характерен более поздний срок начала массовой гибели и, по всей видимости, старения (рис. 2, а, б).

При снижении температуры содержания мух до 16°C в несколько раз возрастает ПЖ всех генотипов по сравнению с 25 и 29°C (рис. 2). Особенно сильно это проявляется у самцов *lgl/+*, полученных от матерей с делецией опухолевого супрессора *lgl*. Они демонстрируют существенно большую ПЖ, чем у реципрокных *+/lgl* и контрольных самцов *+/+*. На протяжении почти всего эксперимента выживаемость самцов *lgl/+* была выше, чем у

самцов *+/lgl*. У гетерозиготных самцов *lgl/+*, достигших второй половины жизни, формируется существенно более высокая выживаемость и по сравнению с самцами *+/+* (рис. 2, в). ПЖ у гетерозиготных по *lgl* самок, полученных от прямого и реципрокного скрещиваний, при пониженной температуре содержания отличается незначительно, но выше, чем у особей *Cy/+*. Контрольные мухи *+/+* живут дольше, чем гибридные.

Развитие при 29°C вызвало увеличение средней ПЖ по сравнению с данными для нормальной температуры, но только у гетерозиготных самцов *lgl/+*, у которых в роли матерей выступали мутантные гетерозиготные самки *lgl558/Cy* (табл. 5).

ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие рака у человека и животных – сложный, многоступенчатый процесс, связанный с потерей или повреждением определенных генов. Превращение нормальной клетки в раковую происходит при совместном действии уникальных комбинаций мутаций и сигнальных каскадов, контролирующих клеточные цикл и смерть, рост, деление, дифференцировку, и находится под влиянием внешней среды и компенсаторных клеточных механизмов. Молекулярно-генетические исследования генов лабораторных животных, высоко гомологичных супрессорам опухоли и онкогенам человека, позволили моделировать развитие и способность к образованию метастазов раковых новообразований. Наиболее успешно идут

Таблица 3. Материнский эффект утраты одной дозы опухолевого супрессора *lgl* на устойчивость потомства к РНК-содержащему вирусу DCV

Скрещивания	Смертность в потомстве F1, %		
	опыт 1	опыт 2	опыт 3
♀ <i>lgl432/Cy</i> × ♂ +/+	54 ± 5	42 ± 5	25 ± 4.5
♀ +/+ × ♂ <i>lgl432/Cy</i>	80 ± 4	60 ± 3	33 ± 4.0

Таблица 4. Продолжительность жизни и материнский эффект гетерозигот *lgl/+* в двух температурных режимах

Пол	Скращивание	Генотип	Продолжительность жизни, сут			
			25°C		29°C	
			средняя	max	средняя	max
♀ ♀	<i>lgl558/Cy</i> × <i>+/+</i>	<i>lgl/+</i>	72.3 ± 1.4	96	48.9 ± 0.5	57
		<i>Cy/+</i>	75.2 ± 0.7	87	51.7 ± 0.3	60
	<i>+/+</i> × <i>lgl558/Cy</i>	<i>+lgl</i>	78.2 ± 1.2	102	46.5 ± 0.4	54
		<i>+Cy</i>	76.8 ± 0.6	90	48.8 ± 0.3	54
♂ ♂	Контроль	<i>+/+</i> , <i>y</i>	84.7 ± 1.0	105	43.7 ± 0.3	54
		<i>lgl558/Cy</i> × <i>+/+</i>	<i>lgl/+</i>	50.2 ± 1.4	87	37.2 ± 0.7
	<i>+/+</i> × <i>lgl558/Cy</i>	<i>Cy/+</i>	52.7 ± 1.0	78	37.3 ± 0.5	48
		<i>+lgl</i>	55.1 ± 1.3	84	30.8 ± 0.6	48
	Контроль	<i>+Cy</i>	51.5 ± 1.2	78	29.2 ± 0.5	42
		<i>+/+</i>	51.7 ± 1.0	81	29.6 ± 0.3	60

работы по изучению генетических сетей, вовлеченных в генезис опухоли, у *Drosophila melanogaster*. Неопластические разрастания личиночных тканей дрозофил обнаруживают все свойства рака – потерю тканевой архитектуры, независимый рост и пролиферацию, дефекты дифференцировки, отсутствие апоптоза и метастазирование (Георгиев, 1999; Nakem, Mak, 2001; Bilder, 2004; Brumby, Richardson, 2005).

Унифицированная генетическая онтология (www.geneontology.org) выделяет три ипостаси каждого гена: молекулярную функцию, клеточные компоненты и биологические процессы. Молекулярная функция исходного продукта *lgl* – связывание белков, входящих в состав цитоскелета и клеточных мембран. Продукт *lgl* также ассоциирован с компартментами клетки, такими как синаптические везикулы и межклеточные контакты. Спектр биологических процессов, в которых участвует *lgl*, чрезвычайно широк. Это – внутриклеточный белковый транспорт и упорядоченное распределение клеточных и межклеточных белков; установление и поддержание полярности эпителиальных клеток и нейробластов; соучастие в ряде сигнальных путей, регуляции клеточного цикла, негативном контроле клеточной пролиферации и морфогенеза фолликулярного эпителия (Bilder, 2004; Brumby, Richardson, 2005). Онкогенная трансформация нейробластов и других тканей при утрате функции *lgl* – лишь одно из биологических последствий его мутирования.

Концептуальной основой обнаруженного нами парадоксального феномена гаплоадаптивности опухолевого супрессора *lgl* может служить тот факт, что большинство регуляционных процессов и генетические сигнальные пути организованы по принципу контрбаланса. Они включают и активирующие, и ингибиторные сигналы с по-

зитивными и негативными обратными связями. К примеру, ход клеточного деления зависит от баланса стимулирующих и ингибирующих сигнальных путей, функционирующих сходно. В случае активации цепочка сигналов включает: ростовой фактор (активатор) – рецептор на клеточной поверхности – цитоплазматический посредник – фактор транскрипции. В случае ингибирования в начале цепочки стоит сигнал-ингибитор, а все остальные звенья аналогичны. Неоплазия возникает либо в случае сверхэкспрессии стимуляторов клеточного цикла (онкогены) или, напротив, в случае дефектов ингибиторов (супрессоров опухолей). Одни и те же клеточные факторы могут на одном фоне действовать как стимуляторы, а на другом – как ингибиторы (Вайсман, 2004).

По диапазону своего действия опухолевый супрессор *lgl* напоминает другой известный опухолевый супрессор *p53*. Салганик (Salganik, 2001) подробно проанализировал, к каким парадоксам приводит принцип контрбаланса сигнальных путей, в которые вовлечен ген *p53* и которые связаны с уровнем реактивных клеточных оксидантов и антиоксидантов. В ходе метаболизма регулярно возникают клеточные оксиданты. Их роль амбивалента. С одной стороны, повышенный уровень клеточных оксидантов повреждает ДНК и клеточные структуры, от чего клетка защищается выработкой антиоксидантов. Однако, с другой, в умеренных дозах клеточные оксиданты связаны с важными защитными клеточно-организменными функциями. Они запускают антимикробный фагоцитоз, реакции детоксикации и апоптоз. Сигналы апоптоза, возникающие в раковых клетках, приводят к резкому увеличению синтеза белка *p53*. Повышение уровня *p53* выступает в роли митохондриального триггера, запуская синтез клеточных оксидантов и каскад протеолитических

ферментов (каспазы), вызывающих апоптоз. Излишнее добавление антиоксидантов может интерферировать с этими защитными функциями и, напротив, временное снижение их концентрации способно индуцировать апоптоз, защищая от неоплазии. Этот феномен был назван антиоксидантным парадоксом.

Мутации в гене *p53* делают клетки устойчивыми к апоптозу и повышают вероятность неоплазии. Однако в то же время некоторые мутации в *p53* действуют парадоксальным образом: уменьшают вероятность возникновения опухолей, но уменьшают продолжительность жизни. У мышей *+p53^m* раньше, чем обычно, формируются некоторые признаки старения на уровне всего организма: возникает остеопороз, генерализованная атрофия органов, потеря веса и ослабление устойчивости к стрессу. Фенотип гетерозигот *+p53^m*, вероятно, возникает в результате гаплонеэффективности делеции *p53^m* (Kirkwood, 2002; Tuner et al., 2002). Делеционный аллель или аллель с полной утратой функции может стать гаплоадаптивным на определенном метаболическом фоне или в результате межгенных взаимодействий. Такие данные получены в отношении делеционного аллеля *GSTM1*0* (Горбунова и др., 2003).

В последние годы в исследованиях *lgl* открыт новый важный аспект канцерогенеза, связанный с нарушением характера контактов эпителиальных тканей. Участие в контроле полярности и системы межклеточных контактов в разных типах эпителиальных тканей является первичной функцией нормального аллеля опухолевого супрессора *lgl*. Мутации *lgl* нарушают всю архитектуру клеточных рецепторов, что приводит к изменению регуляции клеточного цикла и, в конечном счете, к неоплазии (Bilder, 2004; Brumby, Richardson, 2005).

В эпителиальных тканях дрозофилы клетки расположены монослойно. Каждая клетка имеет определенную форму, где (подобно колоннам в здании) различают верхушечный, или апикальный, полюс и базальный, в области которого клетки прикреплены к общему основанию – матриксу. Друг с другом клетки связаны по бокам тремя типами полюсноупорядоченных соединений. Колонновидную архитектуру эпителиальных клеток наряду с упорядоченным распределением по длине клетки трех мембранных комплексов называют полярностью. Отличительные свойства карцином – утрата клеточной полярности, нарушение контактных зон клеток – оказались не вторичными, но первичными механизмами запуска неоплазии (Terass et al., 2001; Bilder, 2004).

Три феномена – утрату полярности, нарушение контактов и неограниченное размножение

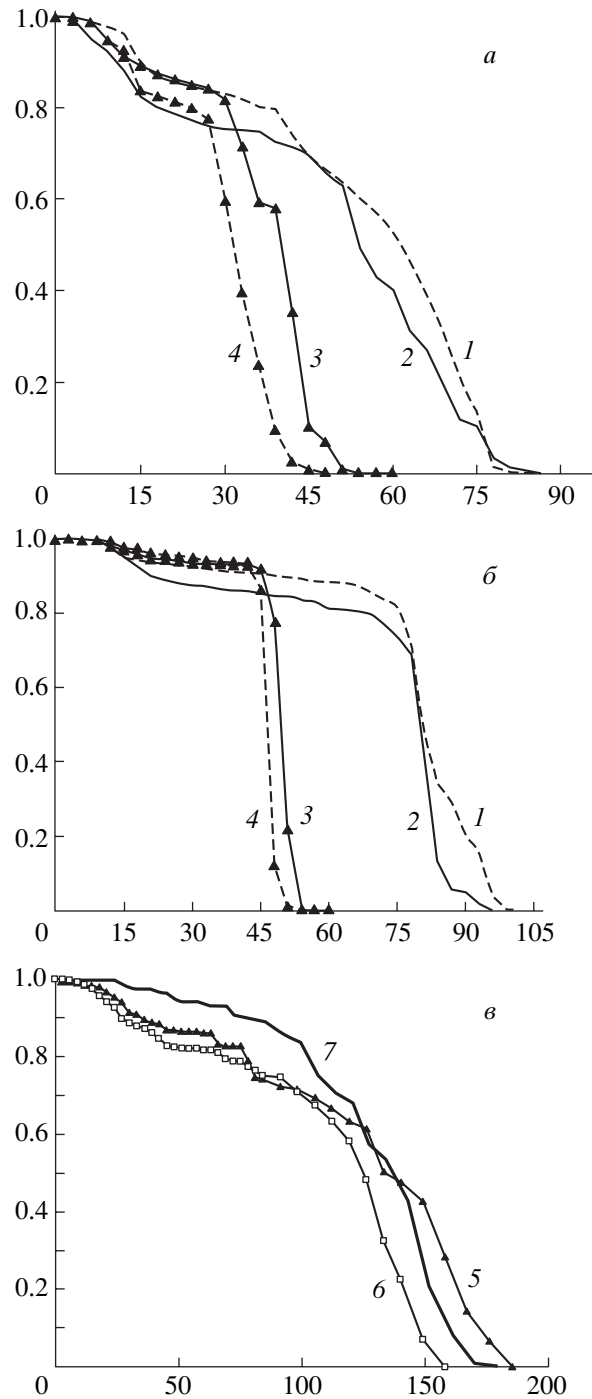


Рис. 2. Преимущества по продолжительности жизни гетерозигот *lgl/+* от матерей *lgl/Cy* в стрессовых температурных условиях ($p = 0.05$): *a, в* – самцы, *б* – самки. По оси абсцисс – возраст гетерозигот, сут; по оси ординат – выживаемость. Линии: 1 – *+lgl558*, 25°C; 2 – *lgl558/+*, 25°C; 3 – *lgl558/+*, 29°C; 4 – *+lgl558*, 29°C; 5 – *lgl558/+*, 16°C; 6 – *+lgl558*, 16°C; 7 – *+/+*, 16°C.

(или неоплазию) – изучают в последние годы в аспекте генных путей, сходных у дрозофилы и человека (Hakem, Mak, 2001; Brumby, Richardson, 2005; Schimanski et al., 2005). В единую генную

Таблица 5. Выживаемость при 29°C самцов F1, выросших в разных условиях

Скрещивание	Генотип потомства	Средняя продолжительность жизни при 29°C, сут	
		развитие при 25°C	развитие при 29°C
<i>lgl558/Cy</i> × <i>+/+</i>	<i>lgl/+</i>	31.5 ± 0.5	34.8 ± 0.4
	<i>Cy/+</i>	28.4 ± 0.5	33.2 ± 0.5
<i>+/+</i> × <i>lgl558/Cy</i>	<i>+/lgl</i>	28.5 ± 0.5	27.4 ± 0.3
	<i>+/Cy</i>	25.5 ± 0.3	26.8 ± 0.4

сеть, контролирующую три зоны межклеточных соединений у беспозвоночных и позвоночных животных, входят 12–15 генов-ортологов, эволюционно консервативных по структуре доменов и расположению их продуктов на клеточных мембранах и в зонах контактов. При этом ключевую роль играют *lgl* и еще два сходных по фенотипу опухолевых супрессора – *dlg* и *scrib*. Гену *lgl* отводят уникальную роль дирижера, ибо кодируемый им цитоплазматический продукт входит в состав цитоскелета и мембран, вовлечен в регуляцию цикла Е в клеточном цикле и в систему экзоцитоз/эндоцитоз, связанную с везикулярным (пузырьковым) транспортом макромолекул (Humbert et al., 2003; Bilder, 2004). Можно думать, что одна доза гена каким-то образом определяет такую мембранную архитектуру белков и клеточных контактов, которая при стрессе оказывается благоприятной в смысле биологической приспособленности на уровне целого организма и популяции.

Повышение устойчивости к заражению DCV носителей одной дозы гена у гетерозигот *lgl/+* связано, видимо, уже с другими аспектами генетической онтологии *lgl*: его ролью в везикулярном транспорте и цикле экзоцитоз/эндоцитоз (Lehman et al., 1999). У дрозофилы первая лимитирующая ступень заражения вирусом DCV – проникновение в клетку-мишень – осуществляется путем опосредованного мембранным рецептором кластрином эндоцитоза. Гетерозиготность по мутациям *Chc* (*Clathrin heavy chain*) и некоторым другим генам, регулирующим начало эндоцитоза, как и по летальным *lgl*, защищает носителя генов от летальных доз DCV даже лучше, чем двойная доза нормального аллеля. Иными словами, обнаруживается защитный эффект одной дозы нормального гена (гаплоадаптивность), который выражается в том, что при уменьшении числа везикул, обеспечивающих проникновение вируса в клетку и его транспорт, возрастает устойчивость на уровне целого организма (Cherry, Perrimon, 2004).

Показано также, что белок Lgl участвует в распространении сигнала Dpp (Decapentaplegic),

который входит в группу трансформирующих рост факторов TGF-β и связан со многими генными сетями онтогенеза (Arquier et al., 2001). Ген *Chc* взаимодействует с *thickveins*, контролирующим рецептор для Dpp; оба белка, Lgl и *Chc*, оказывают влияние на передачу сигнала в каскаде Notch (Klug, Muskavitch, 2002; Justice et al., 2003; Вайсман, 2004). По всей видимости, у особей, несущих одну дозу нормальных аллелей *lgl* или *Chc*, в условиях вирусной инфекции устанавливается оптимальный, ниже нормального, уровень концентрации белков, контролирующих эндоцитоз, и в итоге повышается устойчивость к вирусу.

Эволюционно консервативные генетические и клеточные молекулярные пути дрожжей, нематод, мух и мышей, регулирующие устойчивость к стрессу, управляют и ПЖ. Это обуславливает тесную связь между ответом на внешние стрессовые воздействия и продолжительностью жизни. Функция старения связана с возникновением окислительных повреждений (биологическое ржавление субклеточных структур) и накоплением дефектных белков. Им противостоят механизмы и молекулы устойчивости к стрессу (Arking, 2005).

Серия мутантов *mth*, понижающих активность гена, полученная с помощью инсерции Р-элемента, не только увеличивает ПЖ на 35%, но и обеспечивает их носителям множественную устойчивость к ряду стрессоров: повышенной температуре, голоданию и высокой дозе свободных радикалов, генерируемых добавлением в корм вещества паракват. Белки типа Mth вовлечены в разные по своей генетической онтологии процессы: нейротрансмиссию, физиологию гормонов, передачу запаха и светового сигнала. Мутанты с полной утратой *mth*-функции летальны (Lin et al., 1998).

Генетико-физиологический анализ старения и ПЖ успешно ведется ныне на модельных объектах с помощью выделения и молекулярного анализа отдельных сильно действующих мутаций. Первая выделенная в 1993 г. такого рода мутация гена *daf-2* у круглого червя *C. elegans* увеличила ПЖ мутантных животных в два раза (Helfand, Rogina, 2003).

Старение и продолжительность жизни контролируются многими генами, вовлеченными в различные пути внутриклеточной регуляции метаболизма. Фенотипы по ПЖ могут контролироваться разными антагонистическими молекулярными механизмами устойчивости к стрессу, которые выборочно влияют на разные стадии жизни и изменяют специфичные для возраста паттерны смертности (Arking et al., 2002). Мутации найденных у дрозофилы генов с сильным действием на ПЖ могут действовать по типу антиоксидантов и понижать уровень свободных радикалов, снижать метаболизм глюкозы (*Indy*), кодировать транс-

мембранные продукты, имеющие гуаназинтрифосфатсвязывающие домены (*mth*), активность рецептора гормона экдизона (*EcR*) или деацетилазы гистонов (*Rpd3*).

У дрозофилы и мыши существуют по крайней мере три разных фенотипа по ПЖ, возникающих в зависимости от произведенного внешнего воздействия. Фенотипы различаются по динамике смертности в разные возрастные периоды: в одной группе позднее наступает старение, в другой – уменьшается ранняя смертность, в третьей – уменьшается поздняя смертность. Разным фенотипам по ПЖ соответствуют разные паттерны экспрессии генов (Arking et al., 2002).

В нашем исследовании обнаружено, что опухолевый супрессор *lgl* в гетерозиготном состоянии влияет на ПЖ в условиях стрессовых температур. Смертность в разных возрастных периодах долго живущих гетерозигот *lgl*/+ неодинакова. Для особой этого генотипического класса характерно более позднее наступление старения и смертности в старшей возрастной группе. Наблюдаемый половой диморфизм по ПЖ, возможно, связан с репродуктивностью самок. Такой же полиморфизм характерен для мутаций других генов долгожительства дрозофилы, например, аллеля *Indy^{p115}* (Rogina et al., 2000; Булгакова и др., 2004) и гена деацетилазы гистонов *Rpd3* (Rogina et al., 2002).

Гаплоадаптивность генов долгожительства и стресс-устойчивости, вероятно, отражает одно из важных свойств регулирующих сигнальных клеточных путей – чувствительность к концентрации их структурно-функциональных элементов (Вайсман, 2004). Возможно, гаплосостояние *lgl*/+ создает наилучшие условия для оптимального функционирования генных сетей, связанных со старением, продолжительностью жизни и устойчивостью к температурным воздействиям. Половой диморфизм по ПЖ может определяться разной, зависящей от возраста, чувствительностью сигнальных путей к концентрации регулирующих белков у самок и самцов дрозофилы.

Влияние опухолевого супрессора *lgl* на старение, продолжительность жизни и устойчивость к стрессу может быть опосредовано его участием в развитии эндокринной системы дрозофилы. Характерным признаком гомозигот по летальным мутациям *lgl* является недоразвитие кольцевой железы и снижение уровня экдизона в гемолимфе личинок. Мутации генов рецептора экдизона *EcR* или генов биосинтеза экдизона в гетерозиготном состоянии увеличивают продолжительность жизни и устойчивость к различным стрессам. Нормальное прохождение процессов развития, метаморфоза и репродукции определяется оптимальным соотношением между экдизоном и ювенильным гормоном (Корочкина и др., 1975;

Simon et al., 2003; Arking, 2005). Можно предположить, что реакция на стрессы у гетерозигот *lgl*/+ связана с путями, регулируемыми формированием, а может быть, и функционированием этих желез. Разница в ответах самок и самцов на стрессы, возможно, обусловлена различиями между полами в гормональном статусе и участии в деторождении. Так, виргинные самки, мутантные по гену *Rpd3*, живут дольше, чем оплодотворенные (Rogina et al., 2002).

Таким образом, в работе проанализированы некоторые параметры биологической приспособленности широко распространенных в природных популяциях гетерозигот по нулевым вариантам опухолевого супрессора *lgl* у *D. melanogaster*. Показано, что утрата одной нормальной дозы опухолевого супрессора обеспечивает гетерозиготам *lgl*/+ повышенную эмбриональную выживаемость в условиях конкуренции за жизненные ресурсы и развития при стрессовых температурах (16 и 29°C) и заражении РНК-содержащим вирусом DCV. Детерминация повышенной выживаемости потомков F1 зависит от материнского генотипа и происходит уже в ходе раннего оогенеза самок-родителей *lgl*/+, в предзиготический период. Опухолевый супрессор *lgl* существенно продлевает жизнь его гетерозиготным носителям в стрессовых температурных условиях. Влияние на продолжительность жизни зависит от направления скрещивания. Установленный феномен назван гаплоадаптивностью. При этом к человеку результаты нашей работы заставляют обратить особое внимание на оогенезозависимый трансгенерационный аспект детерминации и проявления мутантных факторов риска, включая супрессоры опухолей. Полученные данные важны для понимания причин распространения в популяциях человека нулевых вариантов по генам, связанным с развитием множественных патологий, включая рак.

Авторы благодарны К.Г. Арбееву за помощь в компьютерной обработке данных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Баранов В.С., Баранова Е.И., Иващенко Т.Э. и др. Геном человека и гены “предрасположенности”. СПб.: Интермедика, 2000. 271 с.

Булгакова Н.А., Трунова С.А., Омелянчук Л.В. Мутация *Indy^{p115}* увеличивает продолжительность жизни имаго *Drosophila melanogaster* в зависимости от пола и генетического окружения // Генетика. 2004. Т. 40. № 4. С. 482–489.

Вайсман Н.Я. Сигнальные пути клеток в онтогенезе животных на примере Notch каскада у *Drosophila melanogaster* // Журн. общ. биологии. 2004. Т. 65. № 4. С. 322–333.

- Георгиев Г.П. Как нормальная клетка превращается в раковую // Соросов. образоват. журн. 1999. № 4. С. 17–22.
- Горбунова В.Н., Стрекалов Д.Л., Хавинсон В.Х. Анализ корреляций между генетическими маркерами, ассоциированными с ишемической болезнью сердца, и показателями липидного давления и артериального давления // Мед. акад. журн. 2003. Т. 3. № 1. С. 66–76.
- Корочкина Л.С., Фурсенко О.А., Шерудило А.И. Характеристика эндокринной системы мутантов *l(2)gl* *Drosophila melanogaster*, различающихся по времени гибели // Генетика. 1975. Т. 11. № 8. С. 58–65.
- Светлов П.Г., Корсакова Г.Ф. Критические периоды в развитии макрохет в жизненном цикле *Drosophila melanogaster* // ДАН. 1967. Т. 176. № 1. С. 226–229.
- Соколова К.Б. Развитие фенотипики в первой половине XX века. М.: Наука, 1998. 160 с.
- Соколова К.Б., Голубовский М.Д. Жизнеспособность гетерозигот по летальным аллелям локуса “гигантские личинки” у *Drosophila melanogaster* при разных температурах // Генетика. 1979а. Т. 15. № 3. С. 454–463.
- Соколова К.Б., Голубовский М.Д. Исследование чувствительности к температуре летальных аллелей локуса “гигантские личинки” у *Drosophila melanogaster* // Там же. 1979б. Т. 15. № 12. С. 2175–2182.
- Фишер Р.А. Статистические методы для исследователей. М.: Госиздат, 1958. С. 74.
- Хавинсон В.Х., Соловьева Д.В., Стрекалов Д.Л. и др. Анализ распределения в российской популяции некоторых генетических маркеров с мультифакториальной патологией среднего и пожилого возраста // Мед. акад. журн. 2002. Т. 2. № 4. С. 56–66.
- Arking R. Biology, fruit flies, and humans: can extended longevity stretch from one to the other? // Gerontologist. 2005. V. 45. P. 418–425.
- Arking R., Novoseltseva J., Hwangbo D.S. et al. Different age specific demographic profiles are generated in the same normal lived *Drosophila* strain by different longevity stimuli // J. Gerontology. 2002. V. 57. № 11. P. B390–398.
- Arquier N., Perrin L., Manfrulli P. et al. The *Drosophila* tumor suppressor gene *lethal(2)giant larvae* is required for the emission of the Decapentaplegic signal // Development. 2001. V. 128. № 12. P. 2209–2220.
- Bilder D. Epithelial polarity and proliferation control: links from the *Drosophila* neoplastic tumor suppressors // Genes Devel. 2004. V. 18. № 16. P. 1909–1925.
- Birchler J.A., Riddle N.C., Auger D.L. et al. Dosage balance in gene regulation: biological implications // Trends Genet. 2005. V. 21. № 4. P. 219–226.
- Brumby A.M., Richardson H.E. Using *D. melanogaster* to map human cancer pathways // Nat. Cancer Rev. 2005. V. 5. № 8. P. 626–639.
- Cherry S., Perrimon N. Entry is a rate-limiting step for viral infection in a *Drosophila melanogaster* model of pathogenesis // Nat. Immunol. 2004. V. 5. № 1. P. 81–87.
- De Lorenzo C., Strand D., Mechler B.M. Requirement of *Drosophila l(2)gl* function for survival of the germline cells and organization of the follicle cells in a columnar epithelium during oogenesis // Int. J. Devel. Biol. 1999. V. 43. № 3. P. 207–217.
- Gateff E. Malignant neoplasms of genetic origin in *Drosophila melanogaster* // Science. 1978. V. 200. № 4349. P. 1448–1459.
- Gateff E., Schneiderman H.A. Neoplasms in mutant and cultured wild-type tissue of *Drosophila* // Natl. Cancer Inst. Monogr. 1969. V. 31. P. 365–397.
- Gateff E., Golubovsky M., Sokolova K.B. Lethal phase, morphology and developmental capacities of the presumptive adult optic centers in the larval brain and the imaginal discs of fifteen *l(2)gl* alleles and net *l(2)gl* deficiency // Dros. Inf. Serv. 1977. V. 52. P. 58.
- Golubovsky M. Mutation process and microevolution // Genetica (Netherlands). 1980. V. 52/53. P. 139–149.
- Golubovsky M.D., Manton K.A. Three-generation approach in biodemography is based on the developmental profile and the epigenetics of female gametes // Frontiers Biosci. 2005. V. 10. P. 187–191.
- Golubovsky M.D., Konev A.Y., Walter M.F. et al. Terminal retrotransposon activate a subtelomeric white transgene at the 2l telomere in *Drosophila* // Genetics. 2001. V. 158. № 3. P. 1111–1123.
- Grifoni D., Garoia F., Schimanski C.C. et al. The human protein Hurler-1 substitutes for *Drosophila lethal giant larvae* tumour suppression function *in vivo* // Oncogene. 2004. V. 23. № 53. P. 8688–8694.
- Hakem R., Mak T.W. Animal models of tumor-suppressor genes // An. Rev. Genet. 2001. V. 35. P. 209–241.
- Helfand S.L., Rogina B. Genetics of aging in the fruit fly, *Drosophila melanogaster* // Ibid. 2003. V. 37. P. 329–348.
- Humbert P., Russel S., Richardson H. Dlg, Scribble and Lgl in cell polarity, cell proliferation and cancer // BioEssay. 2003. V. 25. № 6. P. 542–553.
- Justice N., Roegiers F., Jan L.Y. et al. Lethal giant larvae acts together with *numb* in *Notch* inhibition and cell fate specification in the *Drosophila* adult sensory organ precursor lineage // Curr. Biol. 2003. V. 13. № 9. P. 778–783.
- Kirkwood T. B. L. *p53* and ageing: too much of a good thing? // BioEssays. 2002. V. 24. № 7. P. 577–579.
- Klueg K.M., Muskavitch M.A.T. Novel roles for *dynammin* and *clathrin* in *Notch* subcellular trafficking // A. Dros. Res. Conf. 2002. V. 43. P. 448A.
- Lehman K., Rossi G., Adamo J. E. et al. Yeast homologues of *tomosyn* and *lethal giant larvae* function in exocytosis and are associated with the plasma membrane SNARE, Sec9 // Cell Biol. 1999. V. 146. № 1. P. 125–140.
- Lin Y., Seroude L., Benzer S. Extended life-span and stress resistance in the *Drosophila* mutant *Methuselah* // Science. 1998. V. 282. № 5390. P. 943–946.
- Manfrulli P., Arquier N., Hanratty W.P., Semeriva M. The tumor suppressor gene, *lethal(2)giant larvae* (*l(2)gl*), is required for cell shape change of epithelial cells during *Drosophila* development // Development. 1996. V. 122. № 7. P. 2283–2294.
- Mechler B.M., McGinnis W., Gering W. Molecular cloning of *lethal(2)giant larvae*, a recessive oncogene of *Drosophila melanogaster* // EMBO J. 1985. V. 4. № 6. P. 1551–1557.

- Plus N., Golubovsky M. Resistance to *Drosophila* C virus of fifteen *l(2)lg* lethals from different geographical origins // *Genetika* (Belgrade). 1980. V. 12. № 2. P. 227–231.
- Plus N., Groizier G., Jousset X.F. et al. Picornaviruses of laboratory and wild *Drosophila melanogaster*: geographical distribution and serotypic composition // *Ann. Microbiol. Inst. Pasteur*. 1975. V. 126A. P. 107–117.
- Rogina B., Reenan R.A., Nilsen S.P. et al. Extended life-span conferred by cotransporter gene mutations in *Drosophila* // *Science*. 2000. V. 290. № 5499. P. 2137–2140.
- Rogina B., Helfand S.L., Frankel S. Longevity regulation by *Drosophila* Rpd3 deacetylase and caloric restriction // *Ibid.* 2002. V. 298. № 5599. P. 1745–1749.
- Salganik R.I. The benefits and hazards of antioxidants: controlling apoptosis and other protective mechanisms in cancer patients and the human population // *J. Amer. Col. Nutr.* 2001. V. 20. № 5. P. 464–472.
- Santarosa M., Ashworth A. Haploinsufficiency for tumour suppressor genes: when you don't need to go all the way // *Bioch. Bioph. Acta*. 2004. V. 1654. № 2. P. 105–122.
- Schimanski C.C., Scmitz G., Kashyap A. et al. Reduced expression of *Hugl-1*, the human homologue of *Drosophila* tumour suppressor gene *lgl*, contributes to progression of colorectal cancer // *Oncogene*. 2005. V. 24. № 19. P. 3100–3109.
- Simon A.F., Shih C., Mack A. et al. Steroid control of longevity in *Drosophila melanogaster* // *Science*. 2003. V. 299. № 5611. P. 1406–1409.
- Svetlov P.G., Korsakova G.F. Adaptive changes in degree of eye reduction in eyeless mutants of *Drosophila melanogaster* after thermal shock during the critical periods of faceted eye development // *Sov. J. Devel. Biol.* 1975. V. 5. № 2. P. 160–162.
- Tepass U., Tanentzapf G., Ward R. et al. Epithelial cell polarity and cell junctions in *Drosophila* // *Ann. Rev. Genet.* 2001. V. 35. P. 747–784.
- Tyner S.D., Venkatachalam S., Choi J. et al. *p53* mutant mice that display early ageing-associated phenotypes // *Nature*. 2002. V. 415. № 6867. P. 45–53.
- Veitia R.A. Exploring the etiology of haploinsufficiency // *BioEssay*. 2002. V. 24. № 2. P. 175–184.

Haploadaptivity of Tumor Suppressor *lgl* and Ontogenesis in *Drosophila melanogaster*: Increased Survival Rate and Life Span under Stress Conditions

N. Ya. Weisman*, N. Plyus***, and M. D. Golubovsky**

* Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, pr. Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia

** Center of Demographic Studies, Duke University, USA

*** St. Christol, Les-Ales, France

E-mail: weisman@bionet.nsc.ru

Abstract—Mutations of tumor suppressor *lgl* induce neuroblastoma and malignant transformation of epithelial larval tissues in *Drosophila*. We have already shown that heterozygotes for lethal null variants *lgl/+* are widespread in natural populations. In order to elucidate this paradox, we analyzed the parameters of biological adaptation of the carriers of one dose of the tumor suppressor. We studied the patterns of embryonic survival rate of *lgl/+* flies under the conditions of competition for life resources and development at elevated and lowered temperatures (29 and 16°C), influence of stress thermal conditions on life span, influence of short-term temperature stress during prezygotic period in the course of oogenesis of mothers on survival rate of F1 progenies, and resistance of heterozygotes for different lethal *lgl* alleles against RNA virus DCV. The loss of one dose of tumor suppressor *lgl/+* provided for increased survival rate and life span of *lgl/+* heterozygotes under stress conditions. This phenomenon was called haploadaptivity. Important features of adaptogenesis were established in *lgl/+* heterozygotes: dependence on the maternal genotype and critical periods in development. The increased survival rate of F1 progenies was determined already during early oogenesis of their *lgl/+* mothers at the pre-embryo stage. With respect to humans, this conclusion draws attention to the oogenesis-dependent transgenerational aspect of determination and expression of mutant factors of risk, including tumor suppressors. The data obtained are essential for understanding of the causes of spreading null variants for the genes related to multiple pathologies, including cancer, in human populations.

Key words: tumor suppressor, haploadaptivity, stress, *Drosophila*.