

В. А. КИРСАНОВ и Р. П. МАРТЫНОВА

**К ВОПРОСУ О ВЛИЯНИИ ИНЪЕКЦИИ 20-МЕТИЛХОЛАНТРЕНА НА  
МУТАБИЛЬНОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* \***

(Представлено академиком Л. А. Орбели 8 VIII 1946)

В предыдущем сообщении<sup>(1)</sup> авторами было показано, что прибавление к корму сильно действующего канцерогенного вещества, метилхолантрена, в концентрации 0,004% не вызывает заметного влияния на мутационный процесс у дрозофилы. Точно так же не удалось обнаружить ускорения мутационного процесса при удлинении времени действия метилхолантрена и при одновременном повышении концентрации последнего в корме до 0,02%.

Удлинение срока действия метилхолантрена достигалось замедлением цикла развития дрозофилы путем содержания отложенных яиц и развивающихся личинок при температуре 14 — 18° С. В том же сообщении был приведен обзор литературы по данному вопросу, в котором было указано, что отсутствие мутагенного эффекта рассматриваемого агента, возможно, связано несовершенством применявшихся методик, вследствие чего метилхолантрен не достигал зародышевых клеток и, следовательно, не мог воздействовать на гены и хромосомы.

В настоящем сообщении приводятся результаты другой серии опытов, в которых была предпринята попытка создать более благоприятные условия для проникновения канцерогенного вещества в ткани дрозофилы с тем, чтобы увеличить шансы возникновения мутаций. В соответствии с этим в данной серии опытов раствор химически чистого метилхолантрена инъецировался непосредственно в полость тела личинки, откуда он мог, предположительно более свободно, проникнуть в ткани и органы личинки и, в частности, в зародышевые клетки. Применялась методика инъекций, принятая в опытах с дрозофилой<sup>(2, 3)</sup>.

Метилхолантрен был растворен в подогретом рафинированном подсолнечном масле в концентрации 0,5%. Для относительной стандартизации количества вводимого раствора, а следовательно, и метилхолантрена, а также для контроля за ходом операции вообще раствор метилхолантрена в масле был подкрашен суданом. Этот же прием помогал в дальнейшем следить за судьбой введенной капли раствора. В контроле вводилось такое же подкрашенное суданом масло без метилхолантрена. Мы не делали попыток определить количество метилхолантрена, однократно вводимого в полость тела личинки, однако приблизительная оценка дозы может быть сделана, если при данной концентрации метилхолантрена в масле учесть, что объем вводимой капли раствора в среднем в 1 — 2 раза превышал объем гонады мужской личинки соответствующего возраста.

\* Инъекции выполнены Н. Н. Медведевым, которому авторы выражают большую благодарность.

Были проведены две серии опытов. В первой серии в качестве исходного материала для постановки опытов служили мужские личинки дрозофилы в возрасте 3—4 суток, т. е. незадолго до окукливания. После однократной инъекции 0,5% раствора метилхолантрена личинки помещались на обычную питательную среду, где вскоре окукливались и завершали развитие. Всего в первой серии было произведено в опыте 829 инъекций; в контроле — 660 инъекций. Вылупившиеся из оперированных личинок самцы подвергались генетическому анализу на присутствие летальных мутаций в X-хромосоме методом С1В.

В опыте в F<sub>2</sub> на 1337 культур была получена 1 леталь, в контроле на 869 культур — 3 летали (из них 2 — от одного самца).

Помимо учета возникающих в X-хромосоме летальных и полuletальных мутаций, вылупляющиеся из инъецированных личинок мухи первой серии опытов исследовались на наличие изменений типа морфозов, фенкопий и соматических мутаций, касающихся крыльев, глаз и щетинок. Эти наблюдения производились с целью обнаружения возможного непосредственного действия метилхолантрена на ткани и органы инъецируемой особи.

Как в опыте, так и в контроле у imago были обнаружены изменения главным образом щетинок: в некоторых случаях щетинки были резко уменьшены, в других — появились лишние щетинки. В опыте на 212 исследованных мух оказалось 64 измененных мухи, что составляет 30,19%; в контроле на 157 исследованных мух оказалось 35 измененных мух, что составляет 22,29%.

Во второй серии опытов инъекции производились более молодым личинкам, а именно — личинкам 1—2-дневного возраста, как мужским, так и женским. Концентрация метилхолантрена в масле была увеличена с 0,5 до 1,25%.

Кроме того, в дополнение к воздействию метилхолантрена путем инъекции, мы стремились также обеспечить непрерывное поступление его в организм per os. В соответствии с этим личинки, которым был инъецирован метилхолантрен, и развивающиеся из них мухи все время содержались на питательной среде, содержащей метилхолантрен в концентрации 0,02% (2 капли раствора 1,25% раствора метилхолантрена на 5 см<sup>3</sup> питательной среды). Контрольный материал в течение всего опыта содержался на среде с прибавлением подкрашенного суданом масла в той же объемной концентрации. Инъекции производились личинками в 5 следующих друг за другом поколениях, причем опытные личинки каждого из этих поколений развивались в корме, содержащем в указанной выше концентрации метилхолантрен. Для придания среде большей гомогенности она в подогретом состоянии тщательно размешивалась в пробирке в течение 6 минут с 2 каплями соответствующего раствора, после чего корм приобретал равномерную слабо-розовую окраску.

Последовательность опытов второй серии была такова: дикие самки, оплодотворенные дикими же самцами, откладывали яйца на корм, включавший метилхолантрен в концентрации 0,02%. Через 5—6 дней, когда в культуре развивалось достаточное число личинок, каждой из них в возрасте 1—2 дней была произведена первая инъекция. Вылупившиеся из оперированных личинок опытные мухи F<sub>1</sub> отсаживались в пробирку со свежим кормом, включавшим метилхолантрен, и скрещивались между собой. Такая же процедура производилась с контрольными мухами. Через 3—4 дня, когда было отложено достаточное число яиц, самцы F<sub>1</sub> отсаживались с виргинными самками С1В. Анализ материала на летальные и полuletальные мутации в X-хромосоме производился по обычной методике С1В. Развившиеся из отложенных инъецированными мухами яиц личинки F<sub>2</sub> подвергались такой же операции, как и их родители, т. е. в опытной серии они инъецирова-

лись 1,25% раствором метилхолантрена, а в контрольной — маслом. Самцы, развившиеся из оперированных личинок F<sub>2</sub>, после получения достаточного потомства от них так же, как и в предыдущем поколении, скрещивались с виргинными самками C1B и т. д. до F<sub>5</sub> включительно. Всего во второй серии было произведено в опыте 796 инъекций, в контроле — 649 инъекций.

Всего в опыте на 1100 X-хромосом была получена 1 леталь. В контроле на 507 X-хромосом леталей получено не было. Мы даем сводные результаты по всем 5 поколениям, так как на все эти опытные культуры получена была 1 леталь, а число культур в каждом поколении было весьма невелико.

Как видно из приведенных данных, используемая во второй серии методика также не привела к обнаруживаемому увеличению числа леталей.

	Число оперирован. личинок		Число культур в F <sub>2</sub>		Летальные мутации				Изменение типа морфозов						$\frac{D}{m \text{ diff}}$
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт		контр-рель		число исслед. мух		Измененные мухи				
					число	%	число	%	опыт	контроль	опыт		контроль		
											число	% ±	число	% ±	
1-я серия	829	660	1337	869	1	0,07	3*	0,35	212	157	64	30,19 ± ±3,15	35	22,29 ± ±3,32	7,9 4,58
2-я серия	796	649	1100	507	1	0,09	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1-я + 2-я серии	1625	1309	2437	1376	2	0,03	3	0,22	—	—	—	—	—	—	—
Рентгенизованные а)	—	—	383	—	9	2,35	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Мухи б)	—	—	—	205	—	—	4	1,95	—	—	—	—	—	—	—
F <sub>5</sub> в)	—	—	—	223	—	—	8	3,59	—	—	—	—	—	—	—

\* Из них 2 возникли у одного самца.

Суммированные по обеим сериям результаты показывают, что на 2437 исследованных X-хромосом в опыте возникли 2 летали, в то время как на 1376 X-хромосом в контроле возникли 3 летали (из них 2 — от одного самца).

Помимо этого, с целью установить, способствует ли метилхолантрен увеличению мутабельности, был поставлен опыт по совместному действию метилхолантрена и X-лучей, для чего часть мух F<sub>5</sub>, как опытных, так и контрольных, подверглась рентгенизации. Условия облучения: доза 3000 г, 180 kV, 4 mA, фильтр 1 Al, расстояние от антикатада 24 см. Рентгенизации подвергались мухи 3 типов (см. таблицу): а) опытные мухи F<sub>5</sub>, подвергавшиеся в личиночной стадии инъекциям раствора метилхолантрена в течение 5 последовательных поколений; б) контрольные дрозофилы F<sub>5</sub>, личинкам которых производились инъекции масла в 5 следующих друг за другом поколениях; в) мухи дикого типа из основной линии. После облучения самцы сажались с виргинными самками C1B и содержались с ними 20 суток; мухи пересаживались на свежий корм через каждые 5 суток. В F<sub>5</sub> определялась частота летальных мутаций обычным методом C1B. Результаты всех опытов приведены в таблице.

Полученные результаты показывают, что, независимо от того, вводился ли метилхолантрен в меньшей концентрации (0,5%) или большей (1,25%), взрослым личинкам или более молодым, однократно или в ряде последующих 5 поколений, — частота возникновения летальных мутаций практически остается одинаковой.

Таким образом, применением описанных выше методик нам не удалось обнаружить влияния метилхолантрена на мутационный процесс у *Drosophila melanogaster*. Наши результаты подтверждают данные Аuerbach<sup>(4)</sup>, также применявшей разнообразные методики для обнаружения мутагенного действия канцерогенных веществ и получившей отрицательные результаты.

Лаборатория наследственности  
Центрального онкологического института  
Министерства здравоохранения РСФСР  
и Лаборатория онкологии Академии  
медицинских наук СССР

Поступило  
25 VI 1946

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Р. П. Мартынова и Б. А. Кирсанова, ДАН, 55, № 7 (1947).  
<sup>2</sup> Н. Н. Медведев, *Drosophila inform. serv.*; № 3 (1937). <sup>3</sup> Он же, Тр. Ин-та генетики АН СССР, № 11 (1937). <sup>4</sup> Ch. Auerbach, Proc. Roy. Soc. Edinb., 40 (1939—1940).