

РОЛЬ ГЕНОВ *Hsp70* В КОНТРОЛЕ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ *Drosophila melanogaster* ПРИ ДЕЙСТВИИ МИКРОВОЛНОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

© 2021 г. **О.В. Горенская***, **А.Б. Гаврилов***, **О.Г. Зацепина****,
Ю.Г. Шкорбатов*, **М.Б. Евгеньев****, *******

*Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, 61022, Харьков, пл. Свободы, 4, Украина

**Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 119991, Москва, ул. Вавилова, 32

***Институт биофизики клетки РАН – обособленное подразделение ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН», 142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3

E-mail: misha672011@yahoo.com

Поступила в редакцию 08.04.2021 г.

После доработки 28.04.2021 г.

Принята к публикации 29.04.2021 г.

Биологические эффекты действия низкоэнергетического электромагнитного излучения часто объясняют индукцией транскрипции генов белков теплового шока. В данном исследовании изучили проявление комплекса адаптивно важных признаков у линий *Drosophila melanogaster* с различным числом копий генов *Hsp70* при действии микроволнового облучения. В экспериментах использовались мутантные линии с делецией всех или нескольких копий *Hsp70* и, в качестве контроля, взяли линию дикого типа *Canton-S*, содержащую в геноме полный набор генов *Hsp70*. Для облучения имаго использовали электромагнитное излучение крайне высокой частоты (мощность 10 мкВт/см², частота 37.7 и 65.0 ГГц, длительность воздействия 5 мин). Результаты экспериментов показали, что у линии дикого типа *Canton-S* с полным набором генов белков теплового шока при действии микроволнового облучения не изменяется количество потомков на стадии куколки и имаго, но повышается эмбриональная смертность и увеличивается медианная продолжительность жизни. У линий с отсутствием всех копий или присутствием одной копии гена *Hsp70* изменения показателей жизнеспособности имели в основном негативный характер. В этих линиях внешнее воздействие привело к снижению количества потомков на стадии имаго, к увеличению числа погибших особей на стадиях куколки и раннего онтогенеза, снижению медианной и максимальной продолжительности жизни имаго. Интересные разнонаправленные результаты при действии микроволнового облучения наблюдали у линии, содержащей четыре копии *Hsp70*. В данной линии особи демонстрируют половой диморфизм в реакции на действие внешнего воздействия: снижение медианной и максимальной продолжительности жизни имаго самок и увеличение этих показателей у самцов. Результаты работы показали важность наличия полного набора генов *Hsp70* в геноме для адаптации организмов к действию микроволнового облучения.

Ключевые слова: электромагнитное излучение, дрозофила, жизнеспособность, эмбриональная смертность, длительность жизни.

DOI: 10.31857/S0006302921040037

Электромагнитное излучение (ЭМИ) как новый антропогенный фактор окружающей среды способно вызвать многообразие генетических эффектов, модифицируя адаптационные способности организмов. Важную роль в формировании устойчивости к действию неблагоприятных факторов окружающей среды играют белки теплового шока *Hsp70*. На сегодня неизученным остается вопрос о их роли в формировании приспособленности при действии низкоинтенсивного ЭМИ.

Сокращение: ЭМИ – электромагнитное излучение.

В серии работ М. Бланка, Р. Гудман и соавторов в экспериментах на культуре клеток человека показана индукция транскрипции *Hsp70* в ответ на действие низкоинтенсивного ЭМИ (8 мкТл, 60 Гц) [1]. Кроме того, такая обработка приводила к временной активации фактора транскрипции 1 генов белков теплового шока (HSF-1) [2]. В культуре клеток человека, подвергшихся воздействию ЭМИ в течение 3 ч (8 мкТл, 60 Гц), уровни *Hsp70* увеличивались после 20 мин воздействия и постепенно снижались, возвращаясь к контрольным значениям, через 2 ч [3]. Воздействие ЭМИ (8 мкТл, 60 Гц, экспозиция 20 мин) индуцировало

активацию и связывание с ДНК факторов транскрипции *Hsp70*, таких как NIF, AP-1 и SP-1 [4]. Полученные результаты позволили авторам выдвинуть концепцию специфически чувствительного к электромагнитному полю домена, расположенного в промоторе *Hsp70* [5, 6].

Получено много достаточно противоречивых результатов при изучении регуляции активности *Hsp70* различными по интенсивности электромагнитными воздействиями на модельных объектах. Так, показано, что реакция культуры клеток на магнитное поле и микроволны обусловлена активацией гена *Hsp70* [7–9]. Но изменение транскрипции гена *Hsp70* в клетках, подвергнутых воздействию электромагнитных полей, не зарегистрировано. В работе [10] было продемонстрировано, что, хотя ЭМИ не влияет на транскрипцию *Hsp70*, оно может значительно увеличивать конститутивный уровень белка *Hsp70*, вероятно, за счет повышения его стабильности. С другой стороны, синусоидальное магнитное поле с частотой 50 Гц увеличивает уровень мРНК *Hsp70* в эндотелиальных клетках аорты свиней, но не влияет на количество белка *Hsp70* [11].

Влияние ЭМИ на экспрессию *Hsp70*, показанное выше, исследовали в основном на различных линиях клеток человека и животных, очень мало экспериментов было выполнено на модельных объектах. В экспериментах на дрозофиле оценивали уровни экспрессии *Hsp70* при действии ЭМП. Включение меченого уридина с помощью автордиографии выявило транскрипцию, активированную ЭМП, в 87 локусах, содержащих шесть генов *Hsp70* [12]. Излучение сотового телефона также вызывало 3.6-кратное повышение уровня белка *Hsp70* у личинок дрозофилы, подвергавшихся воздействию в течение 60 мин дважды в день в течение 10 дней [13].

Новые возможности в изучении механизмов действия ЭМИ в экспериментах на дрозофиле открылись после того, как В. Дж. Гонг и К. Г. Голич [14] получили линии с удаленными генами *Hsp70* (*Hsp70*-null). Было установлено, что гены *Hsp70* необходимы для выживания при достаточном сильном тепловом шоке, но не являются необходимыми при более мягком тепловом воздействии, что указывало на то, что при снижении копий *Hsp70* сохраняется значительная степень термоустойчивости. Кроме того, было продемонстрировано несколько плейотропных эффектов, вызванных делецией *Hsp70* [15]. Эффект теплового шока в экспериментах с линией *Hsp70*-null *Drosophila melanogaster* продемонстрировал активацию синтеза нескольких индуцибельных и конститутивных *Hsp*. Тепловой шок вызвал как экспрессию новых паттернов генов, так и почти полную смертность особей линии *Hsp70*-null [16].

Цель настоящей работы – изучить некоторые компоненты приспособленности линий *D. melanogaster*, содержащих разное количество генов *Hsp70*, при действии микроволнового облучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали мутантные линии *Drosophila melanogaster*, содержащие разное количество копий *Hsp70*: 8841 (*Hsp70*-null), 8842, 1♀41♂. У особей линии 8841 отсутствуют оба локуса, содержащими копии *Hsp70* (87А и 87В). У особей линии 8842 удален локус 87А, но присутствует 87В, содержащий четыре копии *Hsp70* [14]. Трансгенная линия 1♀41♂ получена из линии 8841 с помощью метода Р-опосредованной трансформации в лаборатории М. Евгеньева [17] и содержит одну копию *Hsp70*. В качестве контроля использовали линию дикого типа *Canton-S*, поскольку, как показано в работе [18], в геноме мух дикого типа присутствуют шесть почти идентичных копий генов, которые кодируют *Hsp70*.

Мух выращивали на стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре $23.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$. В экспериментах виргинных имаго в возрасте двух суток подвергали внешнему воздействию. На третьи сутки мух скрещивали и оценивали показатели, характеризующие плодовитость (эмбриональную смертность и количество потомков на стадиях куколки и имаго) и длительность жизни родительских особей.

Характеристика внешнего воздействия. Облучали имаго в возрасте двух суток в пробирках со временной средой через вату. Облучение проводили с использованием средств измерений, входящих в состав Вторичного эталона единиц мощности электромагнитных колебаний в волноводных трактах в диапазоне частот (37.50–78.33) ГГц. Этот эталон ежегодно проходит метрологическую аттестацию на Национальном эталоне единиц мощности электромагнитных колебаний в волноводных трактах (путем калибровки эталонов переносчиков единицы поглощенной мощности) в Национальном научном центре «Институт метрологии» (Харьков, Украина) [19].

Возможности эталона позволяют работать с мощностями ЭМИ от $1 \cdot 10^{-3}$ – $1 \cdot 10^{-2}$ Вт с суммарной относительной погрешностью $0.2 \cdot 10^{-2}$ – $0.5 \cdot 10^{-2}$. Для генерации излучений на частотах до 37.5 ГГц и до 78.33 ГГц применяются волноводы прямоугольного сечения 5.2×2.6 мм и 3.6×1.8 мм соответственно. В качестве излучателя применяли открытый конец волновода, а пробирку с имаго *Drosophila melanogaster* размещали (надевали на волновод) таким образом, чтобы соблюдалось условие дальней зоны.

Мощность излучения на выходе из волновода измеряли ваттметром проходящей мощности типа М1-25. Для компенсации влияния затухания ЭМИ в вате на облучаемой частоте при помощи ваттметра поглощенной мощности типа МЗ-22А и термисторной головки методом замещения непосредственно перед экспериментом определяли коэффициент поглощения ваты (3×2 см), который на частоте 65.0 ГГц был равен 1.25, а на частоте 37.5 ГГц — 1.12. Значение мощности, подводимой к открытому концу волновода, устанавливалось для плотности потока энергии $W = 10$ мкВт/см² (0.1 Вт/м²) с учетом этого коэффициента с использованием выражения:

$$P_{\text{и}} = \frac{P 4\pi r^2}{K_{\text{и}}},$$

где P — плотность потока энергии ЭМП, Вт/м²; $P_{\text{и}}$ — мощность излучения от источника, Вт; $K_{\text{и}}$ — коэффициент направленного действия излучателя; r — расстояние до источника излучения, м.

Итоговые параметры микроволнового воздействия на имаго: плотность потока мощности $W = 10$ мкВт/см², частота $F = 37.7$ и 65.0 ГГц, длительность воздействия $t = 5$ мин. При облучении в пробирке находилось 15–20 имаго. В зависимости от типа эксперимента необходимо было получить от 70 до 200 облученных мух каждого пола каждой линии.

Включение меченого ³⁵S метионина в белки слюнных желез *D. melanogaster*. Личинок третьего возраста подвергали тепловому шоку (37.5°C) в течение 30 мин. Затем слюнные железы выделяли и инкубировали в течение 40 мин при 25°C в 20 мкл среды Шнайдера для насекомых (Schneider's insect medium), не содержащей метионин (Sigma, США) и дополненной 1 мкл (1 μCi) метионина, меченого ³⁵S (GE Healthcare, Великобритания). В качестве контроля использовали слюнные железы личинок, содержащихся при 25°C. Меченые слюнные железы лизировали в 20 мкл буфера Лэммли (Laemmli buffer). Белковые экстракты разделяли в 10%-м SDS-полиакриламидном геле. Использовали равные количества каждого образца. Включение радиоактивной метки оценивали с помощью радиоавтографии.

Учет показателей, характеризующих репродуктивную ценность имаго. Определяли среднее количество потомков на стадии имаго от двух родительских пар. Для этого в пробирки, содержащие по 5 мл питательной среды, помещали на пять суток по две пары трехсуточных виргинных имаго и учитывали всех потомков. В каждом варианте эксперимента оценивали потомство от 24–30 пар особей. Параллельно подсчитывали количество особей, погибших на стадии куколки.

Для определения стадии гибели эмбрионов анализировали неразвившиеся яйца дрозофилы по методу, описанному в работе [20]. Различали начальные стадии дробления и образования бластомеры (гибель особей произошла до 5.5 ч эмбрионального развития (I)); стадии гаструляции и сегментации (гибель эмбрионов от 5.5 до 17 ч развития (II)) и стадию органогенеза (гибель от 17 до 22 ч эмбрионального развития (III)). Всего в экспериментах проанализированы кладки яиц от около 1200 самок дрозофилы.

Для каждого варианта эксперимента при анализе количества потомков на стадии имаго рассчитывали среднее арифметическое значение и стандартную ошибку среднего. Результаты анализа показателей гибели особей на стадии куколки и эмбриональной смертности представлены в виде долей (%) с 95%-м доверительным интервалом. Доверительный интервал рассчитывали по Джеффрису [21]. Статистическую значимость отличий контрольных и опытных значений оценивали при помощи критерия Фишера. Проверку нулевых гипотез проводили на уровне значимости 0.05.

Анализ продолжительности жизни имаго. Рассчитывали показатели средней и медианной продолжительности жизни имаго *Drosophila*. Виргинных особей, отдельно самок и самцов, содержали на временной среде в стеклянных пробирках по 25 особей. В каждом варианте эксперимента анализировалась длительность жизни 100–120 имаго каждого пола. Подсчет погибших особей и перенос мух на свежую среду проводили каждые двое суток. Для сравнения различий по показателю медианной продолжительности жизни использовали тест Вилкоксона–Бреслоу–Гехана. Достоверность различий показателя максимальной продолжительности жизни (последние 10% погибших из выборки) оценивали с помощью теста Ванг–Эллисона с поправкой Бонферрони [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для проверки количества копий генов белков теплового шока в линиях 8841 и 1♀41♂ проанализировали включение меченого ³⁵S метионина в слюнные железы личинок дрозофилы трех линий с различным числом копий *Hsp70*. Результаты доказали наличие одной копии (линия 1♀41♂) и отсутствие генов *Hsp70* в геноме особей мутантной линии 8841 (рис. 1).

Результаты исследований жизнеспособности показали, что в контроле наибольшее количество потомков на стадии имаго характерно для линий дикого типа *Canton-S* и мутантной линии 8842, которая содержит четыре копии *Hsp70* (рис. 2 и 3). Для линий с делецией всех копий *Hsp70* (8841) и только с одной копией этого гена (1♀41♂) показа-

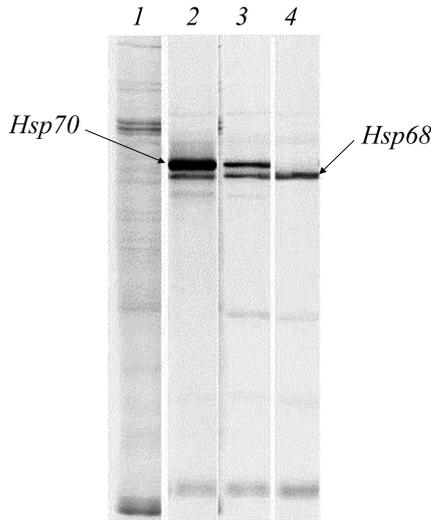


Рис. 1. Включение метионина S^{35} в слюнные железы личинок дрозофилы в нормальных условиях и после теплового шока (37°C , 30 мин): 1 – контроль (линия w^{1188} , содержащая все шесть копий *Hsp70*), развитие при нормальной температуре; 2 – линия w^{1188} после воздействия теплового шока; 3 – линия $I^{\varphi}41\sigma$, содержащая одну копию *Hsp70*, после теплового шока; 4 – линия 8841 с делецией всех копий *Hsp70*, после теплового шока. Положение *Hsp70* и *Hsp68* указано стрелками.

тель плодовитости оказался снижен практически в два раза. Внешнее воздействие не оказало значимого влияния на количество потомков на стадии имаго у линии дикого типа, но привело к увеличению плодовитости линий с разным количеством копий *Hsp70*. Так, облучение с мощностью 37.7 ГГц повысило контроль на 15.84% у линии 8842 (рис. 4а и 5а), с мощностью 65 ГГц – на 48.19% и 29.59% соответственно у линий 8841 и $I^{\varphi}41\sigma$ (рис. 4б и 5б).

Наблюдаемый эффект действия микроволнового облучения опосредован изменениями количества потомков на стадии куколки. Так, воздействие на родительских особей линий с делецией всех копий *Hsp70* (8841) и с одной копией этого гена ($I^{\varphi}41\sigma$) с частотой 65 ГГц увеличило количество куколок в 1.7 и в 1.3 раза соответственно (рис. 2). В то же время количество особей, погибших на стадии куколки, у этих же линий увеличилось по сравнению с контролем в среднем в полтора раза (табл. 1).

Полученные в работе результаты, показывающие увеличение фертильности имаго дрозофилы при действии микроволнового облучения, хорошо согласуются с нашими предыдущими результатами [23]. Но следует отметить, что литературные данные достаточно противоречивы, есть сведения как об увеличении эффекта [13], так и его отсутствии [24], а также о снижении плодовитости

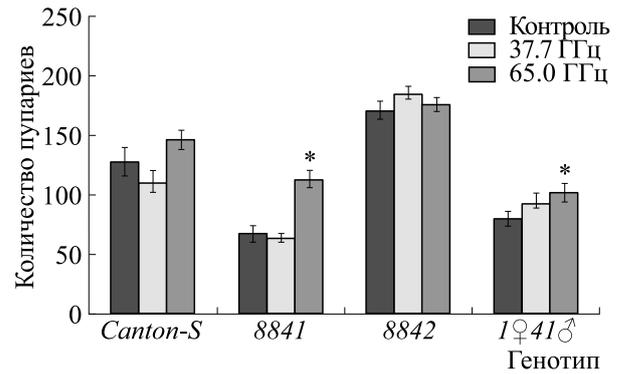


Рис. 2. Количество потомков на стадии куколки у линий дрозофилы с разным количеством *Hsp* после электромагнитного воздействия. * – Уровень значимости различий от контроля $p < 0.05$.

сти [25–27]. Различия в полученных результатах связаны, очевидно, с различиями в методике постановки эксперимента, параметрах (частота, мощность, длительность воздействия) микроволнового излучения, стадии онтогенеза, на которой происходит воздействие, и характеристиками линий дрозофилы.

Анализ стадий эмбриональной гибели показал, что у линии дикого типа максимальное количество погибших эмбрионов приходится на начальные этапы фрагментации бластодермы (первые 5.5 ч развития) и стадию органогенеза (последние 17–22 ч развития) (табл. 2). Уменьшение количества копий *Hsp70* в геноме мутантных линий 8841 , 8842 , $I^{\varphi}41\sigma$ приводит к снижению жизнеспособности эмбрионов на стадии гаструляции и начальных этапах сегментации (5.5–17 ч развития).

Микроволновое облучение негативно влияет на процессы раннего онтогенеза дрозофилы, увеличивая эмбриональную смертность в основном на стадиях сегментации и органогенеза. У линии дикого типа в 2.29 раза ($p < 0.05$) возросло количество эмбрионов, погибших на стадии гаструляции и начальных этапах сегментации. Аналогичные изменения произошли и у линии 8841 ($p < 0.05$). У особей линии $I^{\varphi}41\sigma$ увеличилась смертность эмбрионов на начальных этапах дробления ($p < 0.05$).

Таким образом, действие микроволн увеличивает количество погибших эмбрионов у линий 8841 и $I^{\varphi}41\sigma$ в основном за счет гибели особей на поздних этапах эмбрионального развития. Очевидно, что это один из факторов, приводящий к уменьшению числа потомков у особей этих линий после облучения.

У линии дикого типа *Canton-S* действие микроволн увеличивает медианную продолжительность жизни имаго обоего пола и увеличивается

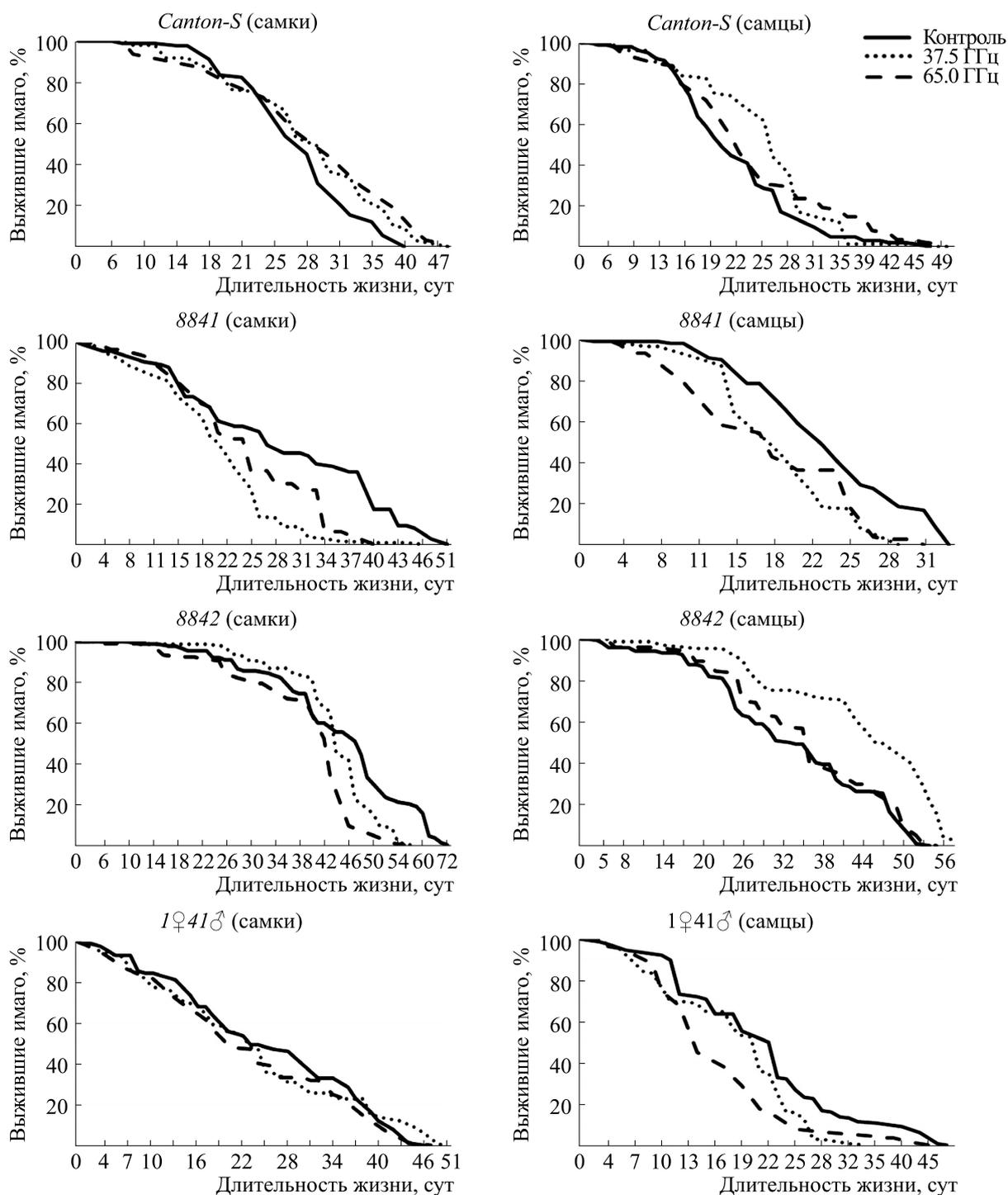


Рис. 3. Кривые дожития имаго линий дрозофилы с разным количеством *Hsp* в контроле и после электромагнитного воздействия.

продолжительность жизни наиболее долгоживущей части особей (рис. 3, табл. 3). У всех мутантных линий, различающихся числом копий *Hsp70*, облучение снижает продолжительность жизни.

Однако особенности этого процесса определяются специфическим набором генов белкового теплового шока в геноме мух. Так, у линии *Hsp70*-null (8841), облучение приводит к снижению как ме-

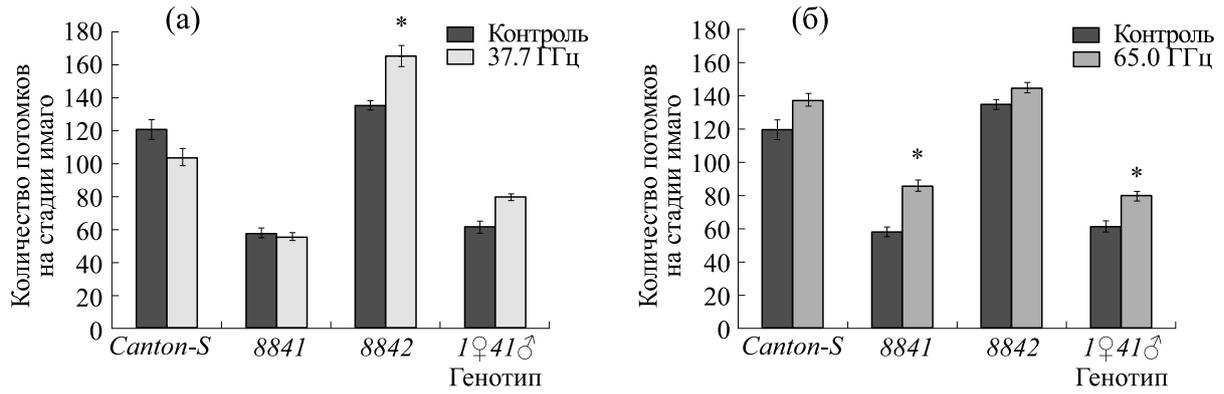


Рис. 4. Плодовитость на стадии имаго (самки) линий дрозофилы с разным количеством *Hsp* после электромагнитного воздействия: (а) – 37.7 ГГц, (б) – 65.0 ГГц. * – Уровень значимости различий от контроля $p < 0.05$.

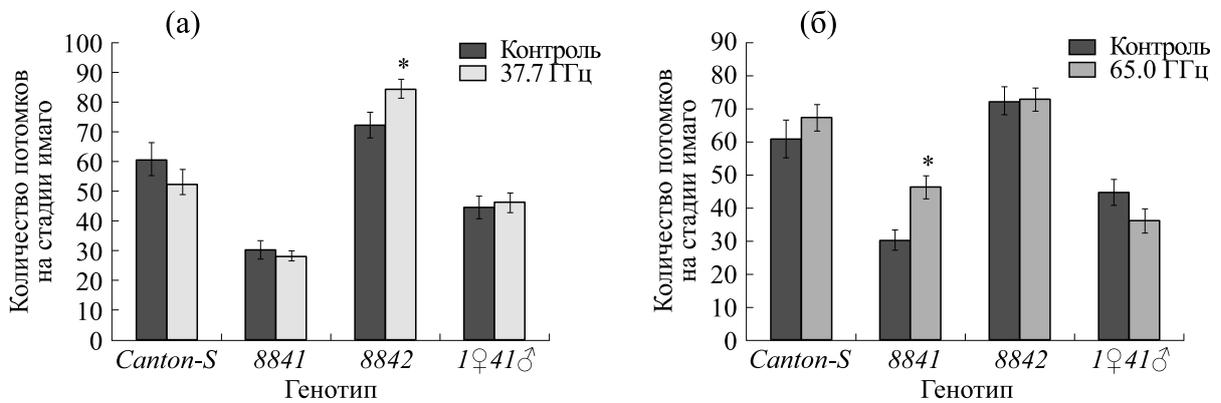


Рис. 5. Плодовитость на стадии имаго (самцы) линий дрозофилы с разным количеством *Hsp* после электромагнитного воздействия: (а) – 37.7 ГГц, (б) – 65.0 ГГц. * – Уровень значимости различий от контроля $p < 0.05$.

дианной, так и максимальной продолжительности жизни имаго обоего пола во всех вариантах экспериментов ($p \leq 0.05$).

У линии с одной копией *Hsp70* ($1♀41♂$) снижение средней продолжительности жизни показано

только у самцов. Долгоживущая часть выборки (как самки, так и самцы) оказалась чувствительной к действию микроволн, и максимальная продолжительность жизни снижалась во всех вариантах экспериментов ($p \leq 0.05$).

Таблица 1. Количество погибших на стадии куколки в потомстве особей дрозофилы, подвергшихся воздействию микроволн

Генотип	Вариант эксперимента		
	Контроль	37.7 ГГц	65 ГГц
<i>Canton-S</i>	5.9 (4.82–7.18)	6.7 (5.22–8.51)	5.9 (4.89–7.10)
<i>8841</i>	13.8 (11.08–17.33)	13.2 (10.30–16.57)	23.9 (21.40–26.64)*
<i>8842</i>	15.2 (13.73–16.83)	10.8 (9.51–12.08)	17.5 (15.90–19.28)
<i>1♀41♂</i>	16.9 (14.74–19.34)	16.6 (14.37–19.09)	23.5 (20.68–26.53)*

Примечание. Доверительный интервал 95%; * – уровень значимости различий от контроля, $p < 0.05$.

Таблица 2. Эмбриональная гибель в потомстве особей дрозофилы, подвергшихся воздействию микроволнового излучения

Генотип	Вариант эксперимента	Эмбрионы, погибшие на разных стадиях онтогенеза, % (доверительный интервал 95%)		
		I (0–5.5 ч)	II (5.5–17 ч)	III (17–22 ч)
<i>Canton-S</i>	Контроль	4.2 (3.30–5.32)	3.1 (2.32–4.05)	6.8 (5.67–8.22)
	37.7 ГГц	3.9 (1.74–7.40)	7.1 (4.06–11.57)*	3.8 (1.74–7.40)
	65 ГГц	4.2 (2.76–6.13)	5.3 (3.65–7.42)	4.8 (3.20–6.78)
<i>8841</i>	Контроль	2.0 (0.84–4.09)	21.7 (17.35–26.67)	1.33 (0.45–3.15)
	37.7 ГГц	0.8 (0.22–2.06)	36.5 (31.84–41.42)*	4.2 (2.49–6.49)
	65 ГГц	2.2 (0.63–5.81)	29.6 (22.42–37.70)	4.4 (1.88–8.93)
<i>8842</i>	Контроль	0.7 (0.35–1.22)	4.3 (3.38–5.48)	0.9 (0.55–1.57)
	37.7 ГГц	0.5 (0.23–1.13)	3.8 (2.82–5.11)	0.9 (0.47–1.62)
	65 ГГц	0.3 (0.10–0.72)	3.6 (2.67–4.69)	0.3 (0.10–0.72)
<i>1♀41♂</i>	Контроль	0.8 (0.23–2.14)	19.6 (15.83–23.89)	2.2 (1.02–4.02)
	37.7 ГГц	1.9 (0.64–4.40)	16.4 (11.92–21.85)	1.4 (0.40–3.71)
	65 ГГц	4.1 (2.19–6.97)*	24.5 (19.68–29.93)	1.9 (0.71–4.03)

Примечание. Доверительный интервал 95%; * – уровень значимости различий от контроля, $p < 0.05$.

Таблица 3. Медианные значения длительности жизни дрозофилы в зависимости от действия микроволн

Генотип	Пол	Вариант эксперимента		
		Контроль	37,7 ГГц	65 ГГц
<i>Canton-S</i>	Самки	28	29	30*
	Самцы	21	27*	23
<i>8841</i>	Самки	27	22*	25
	Самцы	23	18*	18*
<i>8842</i>	Самки	48	44	43*
	Самцы	34	46*	36
<i>1♀41♂</i>	Самки	24	24	21
	Самцы	23	21*	14*

Примечание. * – Уровень значимости различий от контроля $p < 0,05$.

Рассматривая микроволны как стрессовый фактор, снижение медианной продолжительности жизни самок и самцов линии *8841* в опытах можно объяснить пониженной стрессоустойчивостью. Очевидно, что одной копии *Hsp70* у самцов линии *1♀41♂* недостаточно, чтобы нейтрализовать эффекты крайне высоких частот. Самки же этой линии более устойчивы к стрессу, и медианные значения продолжительности жизни в эксперименте соответствуют контрольным (рис. 3).

Линия *8842*, содержащая четыре копии *Hsp70*, характеризуется половым диморфизмом в ответ на использование микроволн. У самок после облучения снизилась как медианная, так и максимальная ($p \leq 0.05$) продолжительность жизни. Самцы продемонстрировали противоположный эффект, и после облучения с частотой 37.7 ГГц наблюдалось весьма значимое увеличение как медианной, так и максимальной ($p \leq 0.05$) продолжительности жизни (рис. 3, табл. 3).

Синтез белков теплового шока у дрозофилы является не только универсальной реакцией на стресс, но и одним из параметров, характеризующих возрастные изменения метаболизма [28]. Так, показано влияние дозы *Hsp70* на жизнеспособность дрозофилы при старении при нормальной температуре [29]. В экспериментах использовали трансгенную линию с двенадцатью дополнительными копиями генов белков теплового шока и линию с уменьшенным количеством копий *Hsp*, которая несла только остаточную конструкцию Р-элемента в том же самом сайте интеграции, где были встроены дополнительные *Hsp70*. Эксперименты, проведенные с этими линиями, показали, что увеличение количества копий генов *Hsp70* улучшает жизнеспособность после теплового шока. С другой стороны, мутантная линия, лишенная копий *Hsp70*, демонстрировала меньшую продолжительность жизни по сравнению с исходной линией и линией с дополнительными копиями генов. Эта разница становилась более выраженной при повышенной температуре (29°C) [30]. Таким образом, полученные в работе результаты, демонстрирующие снижение продолжительности жизни у линии *Drosophila Hsh70-null (8841)*, хорошо согласуются с нашими предыдущими исследованиями.

В данном исследовании изучались отсроченные эффекты низкоинтенсивного электромагнитного излучения по показателям жизнеспособности имаго дрозофилы. В работе использовали линии, содержащие разное количество копий генов белков теплового шока. Показано, что действие ЭМИ крайне высоких частот усиливает мутационный процесс, приводящий к увеличению

количества эмбрионов, погибших в основном на стадиях сегментации и органогенеза. Эта закономерность не зависит от числа генов *Hsp70* в геноме дрозофилы. Однако наблюдается и увеличение количества потомков на стадии имаго у мутантных линий. Очевидно, внешнее воздействие стимулирует яйцекладку у линий со сниженным количеством генов белков теплового шока, что может быть опосредовано изменениями в гормональном балансе имаго, в частности уменьшением титра экдизона в гемолимфе [31].

Если сравнивать полученные эффекты от облучения имаго ЭМИ крайне высоких частот с разными длинами волн, то показана одинаковая тенденция изменений показателей жизнеспособности. Различия показаны только при анализе медианной продолжительности жизни. Так, у линии *8841* показатель снижается в обоих вариантах эксперимента, но эффект выражен сильнее при действии микроволнового облучения с длиной волны 37.7 ГГц. У линии *1♀41♂* с одной копией *Hsp70* снижение медианной ПЖ в эксперименте сильнее при действии 65 ГГц. И для линии *8842* показан разнонаправленный эффект — повышение медианной ПЖ у самцов при действии 37.7 ГГц (аналогичные результаты получены и у линии дикого типа) и снижение показателя у самок при действии 65 ГГц.

Обобщая полученные в работе результаты, мы видим, что у линии дикого типа *Canton-S* с нормальным набором генов белков теплового шока практически не изменяются показатели репродуктивной способности при действии микроволнового облучения, однако возрастает медианная продолжительность жизни. Линии без (*8841*) или с одной (*1♀41♂*) копиями генов белков теплового шока оказались восприимчивыми к микроволновому облучению. Показанные отсроченные изменения показателей жизнеспособности имели в основном негативный эффект. Так, внешнее воздействие привело к снижению количества потомков на стадии имаго, к увеличению числа погибших особей на стадиях куколки и раннего онтогенеза (в основном на поздних этапах эмбрионального развития), снижению медианной и максимальной продолжительности жизни. Интересные разнонаправленные результаты демонстрирует линия *8842*. Имея четыре копии *Hsp70*, особи линии демонстрируют половой диморфизм в реакции на действие микроволнового облучения: снижение медианной и максимальной продолжительности жизни самок и увеличение этих показателей у самцов. Безусловно, экспериментальные манипуляции с древней и высоко сбалансированной системой генов *Hsp70* [30] приво-

дят к нарушению формирования нормального стрессового ответа организма и наблюдаемым изменениям жизнеспособности после облучения имаго. Планируемые протеомные и транскриптомные методы позволят разобраться в механизмах, лежащих в основе роли *Hsp70* в ответе на микроволновое облучение.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Украины (грант № 0119U002549, О. Горенская) и Российского научного фонда (грант № 17-74-30030, М. Евгеньев).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. R. Goodman, M. Blank, H. Lin, et al., *Bioelectroch. Bioener.* **33** (2), 115 (1994). DOI: 10.1016/0302-4598(95)05040-X
2. H. Lin, M. Opler, M. Head, et al., *J. Cell. Biochem.* **66** (4), 482, (1997). DOI: 10.1002/(sici)1097-4644(19970915)66:4<482::aid-jcb7>3.0.co;2-h
3. L. Han, H. Lin, M. Head, et al., *J. Cell. Biochem.* **71** (4), 577 (1998). DOI: 10.1002/(sici)1097-4644(19981215)71:4<577::aid-jcb12>3.0.co;2-v
4. H. Lin, L. Han, M. Blank, et al., *J. Cell. Biochem.* **70** (3), 297 (1998). DOI: 10.1002/(SICI)1097-4644(19980901)70:3<297::AID-JCB2>3.0.CO;2-I
5. H. Lin, M. Blank, and R. Goodman, *J. Cell. Biochem.* **75** (1), 170 (1999). DOI: 10.1002/(SICI)1097-4644(19991001)75:1<170::AID-JCB17>3.0.CO;2-5
6. M. Blank and R. Goodman, *Pathophysiology* **16** (2–3), 71 (2009). DOI: 10.1016/j.pathophys.2009.01.006
7. A. O. Rodríguez de la Fuente, J. M. Alcocer-González, A. J. Heredia-Rojas, et al., *Cell Biol. Int.* **33** (3), 419 (2009). DOI: 10.1016/j.cellbi.2008.09.014
8. A. Garip and Z. Akan, *Acta Biol. Hung.* **61** (2), 158 (2010). DOI: 10.1556/ABiol.61.2010.2.4
9. A. C. Mannerling, M. Simkó, K. H. Mild, and M. O. Mattsson, *Radiat. Environ. Biophys.* **49** (4), 731 (2010). DOI: 10.1007/s00411-010-0306-0
10. R. Alfieri, M. Bonelli, G. Pedrazzi, et al., *Radiat. Res.* **165** (1), 95 (2006). DOI: 10.1667/rr3487.1
11. C. Bernardini, A. Zannoni, M. E. Turba, et al., *Bioelectromagnetics* **28** (3), 231 (2007). DOI: 10.1002/bem.20299
12. R. Goodman, D. Weisbrot, A. Uluc, and A. Henderson, *Bioelectromagnetics* **13** (2), 111 (1992). DOI: 10.1002/bem.2250130205
13. D. Weisbrot, H. Lin, L. Ye, et al., *J. Cell. Biochem.* **89** (1), 48 (2003). DOI: 10.1002/jcb.10480
14. W. J. Gong and K. G. Golic, *Genetics* **168** (3), 1467 (2004). DOI: 10.1534/genetics.104.030874
15. W. J. Gong and K. G. Golic, *Genetics* **172** (1), 275 (2006). DOI: 10.1534/genetics.105.048793
16. B. R. Bettencourt, C. C. Hogan, M. Nimali, and B. W. Drohan, *BMC Biol.* **6** (1), 5 (2008). DOI: 10.1186/1741-7007-6-5
17. V. Shilova, O. G. Zatsepina, D. G. Garbuz, et al., *Insect Mol. Biol.* **27** (1), 61 (2018). DOI: 10.1111/imb.12339
18. M. E. Feder and R. A. Krebs, *Amer. Zool.* **38**, 503 (1998). DOI: 10.1093/icb/38.3.503
19. В. П. Середній, В. І. Огар, Т. М. Голякова, та ін., *Укр. метрологіч. журн.*, № 4, 50 (2009).
20. D. L. Hill, *Drosophila Information Service* **19**, 62 (1945).
21. L. D. Brown, T. T. Cai, and A. DasGupta, *Stat. Sci.* **16** (2), 101 (2001).
22. S. K. Han, D. Lee, H. Lee, et al., *Oncotarget* **7**, 56147 (2016). DOI: 10.18632/oncotarget.11269
23. О. В. Горенская, Д. В. Рыбак, Н. В. Рыбак и др., *Вісник Харківського нац. унів. ім. В. Н. Каразіна. Сер. «Біологія»* **32**, 52 (2020). DOI: 10.26565/2075-5457-2020-34-6
24. T. L. Poy, E. C. Beyer, and C. F. Reichelderfer, *J. Microwave Power* **7** (2), 75 (1972). DOI: 10.1080/00222739.1972.11688836
25. E. Atli and H. Ünlü, *Turk. J. Biol.* **31** (1), 1 (2007). DOI: 10.1080/09553000600798849
26. L. H. Margaritis, A. K. Manta, K. D. Kokkaliaris, et al., *Electromagn. Biol. Med.* **33** (3), 165 (2014). DOI: 10.3109/15368378.2013.800102
27. N. E. Sagioglou, A. K. Manta, I. K. Giannarakis, et al., *Electromagn. Biol. Med.* **35** (1), 40 (2016). DOI: 10.3109/15368378.2014.971959
28. R. I. Morimoto, *Cold Spring Harb. Symp.* **76**, 91 (2011). DOI: 10.1101/sqb.2012.76.010637
29. M. Tatar, A. A. Khazaeli, and J. W. Curtsinger, *Nature*. **390** (6655), 30 (1997). DOI: 10.1038/36237
30. M. B. Evgen'ev, D. G. Garbuz, and O. G. Zatsepina, in *Heat shock proteins and whole body adaptation to extreme environments*, DOI: 10.1007/978-94-017-9235-6 (Springer; Dordrecht, Heidelberg, New York, London, 2014), pp. 59–115.
31. M. R. Meiselman, T. G. Kingan, and M. E. Adams, *BMC Biol.* **16**, 18 (2018). DOI: 10.1186/s12915-018-0484-9

The Role of *Hsp70* Genes in Promoting Control of Viability in *Drosophila melanogaster* Subjected to Microwave Irradiation

O.V. Gorenskaya*, A.B. Gavrilov*, O.G. Zatsepina**,
Yu.G. Shckorbatov*,†, and M.B. Evgen'ev**, ***

*V.N. Karazin Kharkov National University, pl. Svobody 4, Kharkov, 61022 Ukraine

**Engelhard Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia

***Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia

Biological effects produced by low-energy electromagnetic radiation were often explained by transcriptional induction of *Hsp70* gene. In this study, we investigated a series of important adaptation traits developed in *Drosophila melanogaster* strains with different copy number of *Hsp70* genes when subjected to microwave irradiation. In our experiments, we used mutant lines with gene deletion in all or several *Hsp70* copies. The wild-type line (*Canton-S* containing the full set of *Hsp70* genes in its genome) was used as control. For the irradiation of adult flies (the imago), the electromagnetic radiation (power density 10 mW/cm², frequency 37.7 GHz and 65.0 GHz, exposure duration 5 min) was used. The experimental results showed that exposure to microwave radiation produced no effect on the number of the wild-type offspring (*Canton-S* with the full set of *Hsp70* genes) by the pupal stage and imago but was accompanied by increased embryonic mortality and increased median lifespan. In most cases, exposure to microwave radiation led to adverse effects on the viability of lines without all copies or with the presence of one copy of *Hsp70* genes. In these lines, the external influence resulted in lower number of offspring by the imago, an increased number of dead individuals during the pupal and early stages of development, and a decrease in the median and maximum lifespan of the imago. Interestingly, when the strain containing four copies of *Hsp70* was exposed to microwave radiation, it was found that individuals tend to show sexual dimorphism in response to such external influence: a decrease in the median and maximum lifespan of the female imago and an increase of the longevity of the male flies. The results of this investigation demonstrate the importance of the presence of the full set of *Hsp70* genes in the *Drosophila* genome to adapt to microwave radiation.

Keywords: electromagnetic irradiation, Drosophila, viability, embryonic mortality, lifespan