

УДК: 575.2.084:57.044:595.773.4

Влияние фолиевой кислоты и метионина на приспособленность *Drosophila melanogaster*

Н.Е.Волкова, Н.С.Филипоненко, В.В.Красовская, Н.В.Рябуха, Л.И.Воробьева

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина (Харьков, Украина)
volkova_natalya@bk.ru

Исследовано влияние избытка фолиевой кислоты и метионина в рационе *Drosophila melanogaster* на компоненты приспособленности в линиях *Canton-S* (C-S) и *radius incompletus* (ri). Установлено, что избыток в среде как фолиевой кислоты, так и метионина приводит к снижению количества особей, доживающих до стадии куколки. При этом избыток метионина в питательной среде снижает также и количество особей, доживающих до стадии имаго. Изменчивость обоих показателей не зависит от генотипа линии в случае воздействия фолиевой кислотой и зависит – в случае избытка метионина. Избыток метионина в среде приводит также к изменению некоторых показателей ранней эмбриональной смертности среди потомков особей, подвергавшихся воздействию.

Ключевые слова: дрозофила, фолиевая кислота, метионин, компоненты приспособленности.

Вплив фолієвої кислоти і метіоніну на пристосованість *Drosophila melanogaster*

Н.Є.Волкова, Н.С.Філіпоненко, В.В.Красовська, Н.В.Рябуха, Л.І.Воробйова

Досліджено вплив надлишку фолієвої кислоти і метіоніну в раціоні *Drosophila melanogaster* на компоненти пристосованості в лініях *Canton-S* (C-S) і *radius incompletus* (ri). Встановлено, що надлишок в середовищі як фолієвої кислоти, так і метіоніну призводить до зниження кількості особин, які доживають до стадії лялечки. При цьому надлишок метіоніну в живильному середовищі знижує також і кількість особин, які доживають до стадії имаго. Мінливість обох показників не залежить від генотипу лінії в разі впливу фолієвої кислоти і залежить – у випадку надлишку метіоніну. Надлишок метіоніну в середовищі призводить також до зміни деяких показників ранньої ембріональної смертності серед нащадків особин, що піддавалися впливу.

Ключові слова: дрозофіла, фолієва кислота, метіонін, компоненти пристосованості.

Effect of the folic acid and methionine on *Drosophila melanogaster* fitness

N.Ye.Volkova, N.S.Filiponenko, V.V.Krasovska, N.V.Ryabukha, L.I.Vorobyova

Effect of the folic acid or methionine excess in *Drosophila melanogaster* diet on the components of fitness in *Canton-S* (C-S) and *radius incompletus* (ri) stocks has been studied. It has been found that the excess of both folic acid and methionine in food reduces the number of individuals surviving to the pupa stage. The excess methionine in the growth medium also reduces the number of individuals surviving to adult stage. The variability of both indexes is independent of the genotype in the case of exposure to folic acid and is depends on it in the case of methionine excess. The methionine excess in the environment also changes some of the indexes of early embryonic mortality among the offspring of individuals exposed.

Key words: drosophila, folic acid, methionine, components of fitness.

Введение

Понятие «приспособленности» в генетике является сложным, многокомпонентным «суперпризнаком», реализация которого определяется всей системой генотипа конкретной особи, находящейся в конкретных условиях среды. Несмотря на многие неопределённости, существующие в трактовках данного понятия (Суходолец, 2005; Докинз, 2011), дарвиновская, или относительная приспособленность (называемая иногда также селективным, или адаптивным значением) обычно используется в качестве количественной меры интенсивности естественного отбора и является мерой эффективности размножения данного генотипа.

Понимание содержания понятия «приспособленность» подразумевает, что приспособленность – это свойство, обеспечивающее поддержание численности популяции на достаточно высоком уровне. В этом смысле приспособленность должна зависеть, во-первых, от плодовитости, и, во-вторых, от выживаемости, или экологической устойчивости. Однако решающее

значение, конечно, имеет выживаемость, так как именно выживаемость определяет, как много потомков сохранится к завершению жизненного цикла и произведет новое потомство.

В настоящее время, очевидно, что генетический контроль основных компонентов приспособленности эволюционно консервативен, что делает целесообразным проведение исследований на модельных объектах, в том числе на дрозофиле, большинство генов которой имеет гомологи у других высших эукариот. Локусы, аналогичные выявленным у дрозофилы, могут играть роль в контроле признаков и у других организмов, в том числе у человека, и анализ их может пролить свет на общие закономерности контроля приспособленности у многоклеточных.

Приспособленность популяции в целом и отдельных её представителей зависит от целого ряда факторов, например, плотности популяции, действия температуры, различных веществ и т.п. (Le Menn et al., 1983). Наиболее прямой, непосредственной, характеристикой размножения является плодовитость – количество потомков организма, полученное за определённый промежуток времени. Плодовитость, измеренная при оптимальных условиях и в течение всего репродуктивного периода, позволяет судить о потенциале размножения вида. Но потенциал размножения вида никогда не реализуется в полной мере, в силу зависимости плодовитости от комплекса внешних условий (Blatch, 2008). Например, для полной активации откладки яиц дрозофиле, как и другим насекомым, кроме комплекса стимулов спаривания (а успех размножения определяется также и половой активностью), требуется соответствующая пища и некоторые химические стимулы от источников питания, определённые физические условия и пр. Тем не менее, ввиду неприхотливости дрозофилы её пищевые потребности обсуждаются редко и влияние состава корма на плодовитость, изучено недостаточно.

Нами для исследования были выбраны фолиевая кислота и метионин в связи с тем, что оба эти соединения необходимы для нормального развития и функционирования всех живых организмов. При этом они являются компонентами сопряженных метаболических циклов – фолатного и метионинового. На сегодняшний день известно, что средовые факторы, в том числе и компоненты пищи, взаимодействуют с генотипом индивида как при формировании адаптаций, так и в процессе развития определённых патологий, например, рака, сердечно-сосудистых и нейродегенеративных заболеваний (Firso, Choi, 2005). В процессе приспособления к изменяющимся условиям среды регуляция метаболизма живого многоклеточного организма достигается путём координированных взаимодействий между тканями и отдельными клетками. Один из механизмов, обеспечивающих данные взаимодействия, – регуляция генной активности, обусловленная присутствием или отсутствием определённых питательных веществ. В многоклеточном организме экспрессия каждого гена контролируется сложным взаимодействием гормональных, нейрональных факторов и факторов питания. Контроль экспрессии генов путём доступности питательных веществ хорошо описан у прокариот и низших эукариот. Тем не менее, подобные исследования уже проводятся и на млекопитающих. Было показано (Pe'gorier, 1998; Towle, 1995; Foufelle et al., 1998; Vaultont et al., 2000; Duplus et al., 2000; Grimaldi, 2001), что как мажорные (углеводы, жирные кислоты, стеролы), так и минорные (минералы, витамины) составляющие рациона участвуют в регуляции экспрессии отдельных генов. Однако механизмы, вовлеченные в аминокислотный контроль генной экспрессии высших эукариот, изучены не в полной мере (Kilberg, Barbosa-Tessmann, 2002; Mordier et al., 2002; Fafournoux et al., 2000; Bruhat, Fafournoux, 2001). Особая важность этого типа регуляции заключается в том, что, во-первых, многоклеточные организмы не способны синтезировать все аминокислоты и, во-вторых, у них отсутствуют аминокислотные депо (как, например, для липидов или глюкозы). Доступный пул каждой из аминокислот – результат баланса между их поступлением и выведением. Метаболическими выходами аминокислот являются синтез белков и деградация аминокислот, в то время как пополнение может быть за счёт синтеза *de novo* (для заменимых аминокислот), распада белков и поступления с пищей (Averous et al., 2003).

Что касается исследований в данной области, проведенных на насекомых, в частности на дрозофиле, они не многочисленны и отчасти противоречивы. Так, имеются данные о том, что незаменимые аминокислоты, и в частности метионин, влияют на продолжительность жизни и плодовитость мух. Особая роль метионина в обмене веществ, с одной стороны, связана с тем, что он является первой аминокислотой для всех белков, а с другой стороны – со способностью этой аминокислоты отдавать метильную группу на другие соединения (Jones, Baylin, 2002). Последнее способствует синтезу холина, с недостаточным образованием которого, у позвоночных, например, связаны нарушение синтеза фосфолипидов из жиров и отложение в печени нейтрального жира. Кроме того, метионин участвует в синтезе адреналина, креатина и других биологически важных

соединений; активирует действие гормонов, витаминов (В12, аскорбиновой и фолиевой кислот), ферментов.

Фолиевая кислота, как и метионин, не может быть синтезирована в эукариотической клетке. В организме она преобразуется в ряд других соединений (например, дигидрофолат и различные тетрагидрофолаты), совместно именуемых фолатами. Биологические изменения и действия фолатов обычно включают передачу отдельных углеродных групп (например, метильных или формильных) между молекулами фолиевой кислоты или фолатов и другими субстратами. Фолаты являются кофакторами, критическими для многих реакций, таких как синтез пуриновых и пиримидиновых колец для нуклеотидов и переходы между различными серосодержащих аминокислотами (например, метионина в гомоцистеин) (Michal, Schomburg, 2013). О биологическом значении фолиевой кислоты свидетельствует тот факт, что многие заболевания у млекопитающих, в том числе некоторые виды рака и дефекты нервной трубки, вызваны отчасти дефицитом фолиевой кислоты или нарушениями метаболизма фолатов (Bender, 2003). Несмотря на всё вышесказанное, является ли фолиевая кислота на самом деле витамином для насекомых – неясно. Кроме того, есть вопрос, который в литературе обсуждается крайне редко (не только в отношении насекомых, но и в отношении млекопитающих тоже) – это гипервитаминоз по фолиевой кислоте, и каким образом её избыток в пище может влиять на фолат-зависимые метаболизмы.

Таким образом, исходя из вышесказанного, была поставлена цель данного исследования: изучить влияние избытка метионина или фолиевой кислоты в рационе *D. melanogaster* на некоторые компоненты приспособленности.

Материалы и методы

Использовали две линии (рис. 1): *Canton-S (C-S)* и *radius incompletus (ri)* из коллекции кафедры генетики и цитологии Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина.

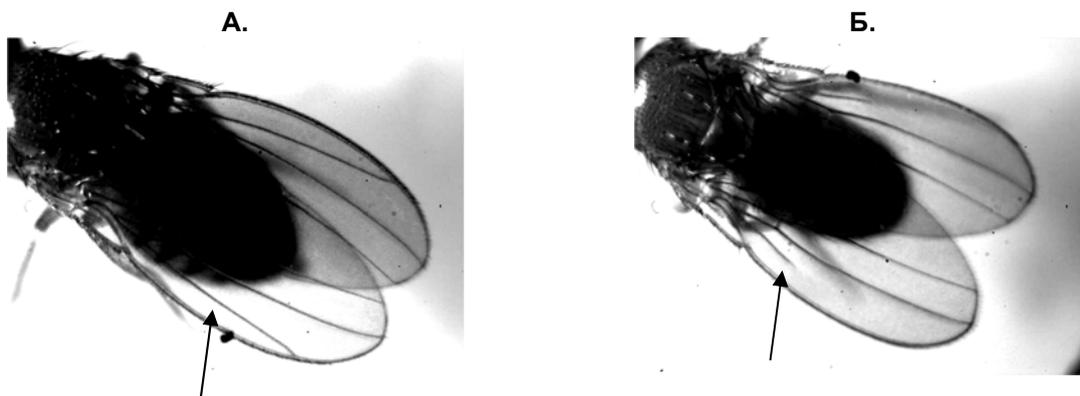


Рис. 1. Фенотип крыловой пластины имаго линий А. *Canton-S (C-S)* и Б. *radius incompletus (ri)* (фото авторов; х 400)

Canton-Special: C-S. Лабораторная линия, полученная из природной популяции долины Кантон, штат Огайо, США. Отселектирована Бриджесом. Несёт рецессивную мутацию множественных торакальных и скутеллярных щетинок, которая частично перекрывает дикий тип, но проявляется спорадически в линиях, частично полученных из *Canton-S*. Хромосомы клеток слюнных желез нормальны. Поддерживается в коллекции с 1960-х годов.

radius incompletus: ri. Линия с генной мутацией *radius incompletus (ri)*. Ген расположен в локусе 3–47.0 (Lindsley, Grel, 1968). Нормальный аллель этого гена (ri^+) обеспечивает формирование полноценной радиальной жилки крыла (рис. 1 А), а мутация *ri* прерывает жилку, разделяя её на два фрагмента – проксимальный и дистальный (Ратнер, Васильева, 1987; Васильева, 2005). Ген обладает 100%-ной пенетрантностью и имеет сильно варьирующую экспрессивность, которая, по-видимому, контролируется несколькими системами генов-модификаторов (Васильева, 1984). Линия *radius incompletus (ri)*, использованная в исследовании, получена сотрудником кафедры генетики и цитологии Н.С.Филиппенко из исходной линии *st ri* с помощью системы скрещиваний с использованием линии-балансера по хромосомам 2 и 3 (*CyO/Pin;Ly/TM3*). Эта линия характеризуется стабильным фенотипическим проявлением признака *ri*: наличием только проксимального участка радиальной жилки крыла (рис. 1Б).

Фармакологический препарат «Метионин». В данной работе использовали фармакологический препарат «Метионин» производства ПАО «Киевский витаминный завод» (г. Киев). Форма выпуска: таблетки, покрытые оболочкой, по 0,25 г. Состав: 1 таблетка содержит D,L-метионина 0,25 г. Вспомогательные вещества: крахмал картофельный, аэросил, кислота стеариновая или кальция стеарат, полисорбат-80, сахар, магния карбонат основной легкий, поливинилпирролидон низкомолекулярный медицинский, тальк, титана диоксид, краситель Понсо 4R, воск пчелиный, масло вазелиновое легкое. Перед использованием таблетки отмывали от оболочки и растирали до порошкообразного состояния.

Фармакологический препарат «Фолиевая кислота». В данной работе использовали фармакологический препарат Фолиевая кислота (*Acidum Folicum*) производства ЗАО «Технолог» (г. Умань). Форма выпуска: Таблетки по 0,001 г. Состав: активное вещество – кислота фолиевая. Вспомогательные вещества: картофельный крахмал, сахар, стеариновокислый кальций.

Фолиевую кислоту и метионин добавляли в питательную среду личинкам из расчета, чтобы конечная концентрация препарата в среде составила 1 мг/мл.

Из компонентов приспособленности в данном исследовании анализировали плодовитость, жизнеспособность особей и уровень смертности на разных этапах предимагинального развития (в эмбриогенезе и на стадии метаморфоза).

Плодовитость линии определяли как среднее количество пупариев в потомстве двух родительских пар. Для этого виргинных самок и самцов каждой экспериментальной группы (возраст – 3 суток) помещали в пробирки со средой в количестве 2♀ и 2♂. Родительские особи были выбраны в коллекции случайным образом. Период яйцекладки составил 7 суток. Затем родительских особей изымали. Учитывали общее количество потомков на стадии куколки. Смертность на стадии куколки оценивали по количеству (в процентах от общего количества пупариев) не вышедших на момент завершения периода выхода имаго пупариев в потомстве двух родительских пар. Жизнеспособность линий определяли по количеству имаго – потомков 2 пар особей (Кайданов, 1979). Заметим, что некоторые авторы применяют иные термины для обозначения данного признака, например «выход имаго» (Журавльова та ін., 2002), «плодовитость» (Левчук, Тоцький, 1998; Парог и др., 1998). Мы в своей работе руководствовались определением (Hirsh, 1967) жизнеспособности как вероятности доживания особей с определённым генотипом до репродуктивного возраста.

Для каждой экспериментальной группы параллельно было поставлено по 20 пробирок, данные по которым усредняли.

В качестве критерия изменений, происходящих в гаметях имаго, использовали показатель частоты доминантных летальных мутаций (ДЛМ) на ранних стадиях эмбриогенеза. Для этого виргинных имаго разделяли по полу в течение 1-х суток после вылета и выдерживали отдельно до половозрелого возраста (трое суток) на временной среде. Затем самцов и самок помещали вместе на 12 часов для спаривания. Осеменённых самок помещали в чашки Петри (d=4 см) с временной средой в количестве 5 штук на чашку на 8 часов для получения кладок яиц. По истечении заданного времени подсчитывали яйцепродукцию. Учет проводили при помощи бинокля МБС 10. Затем полученные кладки яиц помещали в термостат (t=23°C) на 48 часов. По истечении заданного времени проводили учёт доминантных летальных мутаций по следующим параметрам: белые яйца – ранние летали (первые 6–9 часов эмбрионального развития) – рДЛМ; жёлтые и коричневые – поздние летали – пДЛМ (Тихомирова, 1990; Проблемы генетики., 1977). Частоту доминантных летальных мутаций определяли как процентное соотношение неразвившихся яиц к общему числу яиц (сумДЛМ). Для каждого варианта эксперимента было выполнено по 5–15 измерений.

Для каждого показателя вычисляли среднее арифметическое, его ошибку и дисперсию. Факт влияния фолиевой кислоты и метионина на показатели приспособленности устанавливали при помощи дисперсионного анализа количественных признаков. Вычисления проводили с помощью программного обеспечения Microsoft Excel, Statistica 6.0.

Для каждой линии эксперимент проводили по следующей схеме: из коллекции случайным образом отбирали по 40 родительских пар (P) каждой линии в каждую исследуемую группу (одна контрольная – потомство развивалось на стандартной среде; две опытные – потомство развивалось на среде с фолиевой кислотой или с метионином). Родительских особей помещали в пробирки с соответствующей средой (3 мл). В потомстве (F1) учитывали количество особей, доживающих до стадии куколки, уровень смертности во время метаморфоза и число особей, доживающих до стадии имаго. Анализ изменений, произошедших в гаметах особей, выживших в условиях избытка фолиевой кислоты или метионина, проводили по их потомству (F2). Т.е. имаго F1 использовали в качестве родительских особей для оценки ранней эмбриональной смертности, плодовитости, смертности во

время метаморфоза и жизнеспособности. Все параметры оценивали в вариантах скрещиваний: К × К (ни один из родителей не был выращен на среде с добавкой); К × О (отец был выращен на среде с добавкой); О × К (мать была выращена на среде с добавкой); О × О (оба родителя были выращены на среде с добавкой). Потомство F2 во всех случаях развивалось на стандартной среде. Скрещиваний особей, получавших разные добавки, не проводили.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что количество особей, которые доживают до стадии куколки, снижается при добавлении в среду как фолиевой кислоты, так и метионина, в заданной концентрации. Для линии C-S – с $71,1 \pm 3,14$ в контроле до $52,1 \pm 3,33$ (фолиевая кислота) и $39,4 \pm 2,34$ (метионин); для линии *ri* – с $65,7 \pm 1,97$ в контроле до $47,25 \pm 3,42$ (фолиевая кислота) и $29,7 \pm 1,32$ (метионин) (рис. 2). В обеих линиях отмечается также и уменьшение количества особей опытных групп, доживших до стадии имаго (рис. 2) по сравнению с контрольной группой: в линии C-S – с $68,45 \pm 2,87$ до $49,25 \pm 3,19$ (фолиевая кислота) и до $35,9 \pm 2,5$ (метионин), в линии *ri* – с $62,95 \pm 1,84$ до $45,45 \pm 3,27$ (фолиевая кислота) и до $27,7 \pm 1,29$ (метионин).

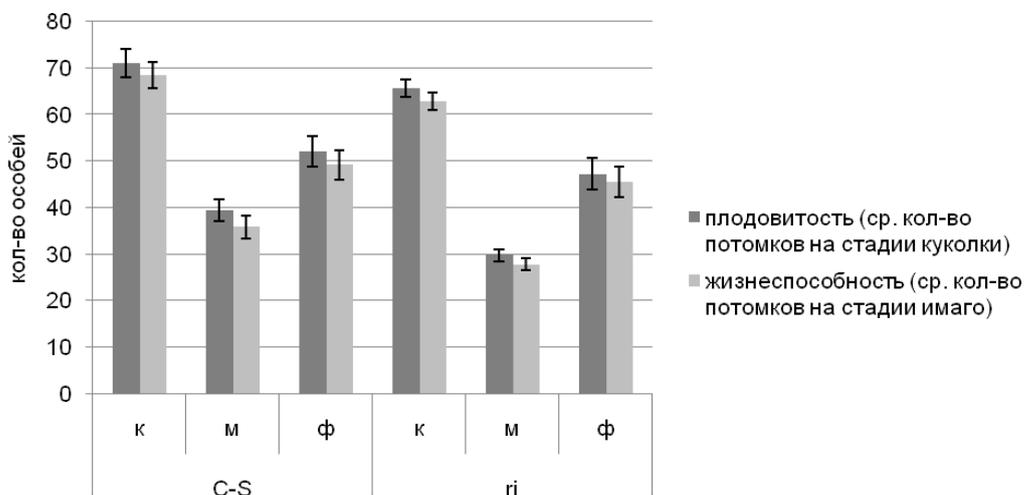


Рис. 2. Влияние избытка фолиевой кислоты или метионина в питательной среде, на количество особей *D. melanogaster*, доживших до стадии куколки и имаго (к – контрольная группа; м – особи развивались на среде с избытком метионина; ф – особи развивались на среде с фолиевой кислотой)

Полученные результаты свидетельствуют о том, что уменьшение числа особей, доживающих до стадии имаго при добавлении в среду фолиевой кислоты или метионина, частично обусловлено увеличением уровня смертности на стадии метаморфоза (рис. 3). Так, в контрольной группе линии C-S уровень смертности составляет $3,5 \pm 0,5$ %. При добавлении фолиевой кислоты данный показатель повышается до $4,7 \pm 0,7$ %, а при добавлении метионина – до $9,7 \pm 1,5$ %. Для линии *ri* на среде с фолиевой кислотой существенных изменений по данному показателю не выявлено (значение в контроле – $4,0 \pm 0,6$ %, в опыте – $3,5 \pm 0,9$ %), а на среде с метионином уровень смертности увеличивается до $6,7 \pm 1,1$ %. Следует отметить, что в контрольной группе смертность ниже в линии C-S, а на среде с метионином, наоборот, в мутантной линии. То есть, линия дикого типа продемонстрировала более резкую реакцию по данному показателю. Такие различия могут свидетельствовать о межлинейных различиях активности ферментов, обеспечивающих обмен фолиевой кислоты и метионина в клетках, и, возможно, и по аллельному составу генов, контролирующих синтез этих ферментов. Данное предположение нуждается в экспериментальной проверке.

Дисперсионный анализ показал, что, независимо от генотипа линии, избыток в среде фолиевой кислоты приводит к снижению количества особей, доживающих до стадии куколки ($F=38,33$; $p<0,001$) и имаго ($F=41,41$; $p<0,001$), но не влияет на уровень смертности на стадии метаморфоза ($F=0,26$;

$p=0,61$). Следовательно, гибель особей происходит преимущественно на более ранних стадиях развития (во время эмбриогенеза или на стадии личинки). Избыток в среде метионина приводит к снижению количества особей, доживающих до стадии куколки ($F=217,59$; $p<0,001$) и имаго ($F=234,330$; $p<0,001$), частично за счёт увеличения уровня смертности на стадии метаморфоза ($F=20,43$; $p<0,001$). Причём при действии метионина в случае обоих исследованных показателей изменчивость зависит и от генотипа линии ($F=10,85$; $p<0,002$ и $F=9,51,59$; $p<0,003$). Линия дикого типа оказалась более чувствительной к воздействию по сравнению с мутантной.

Механизмы, опосредующие такие изменения, наверняка, вовлекают большинство, если не все, обменных процессов на протяжении всего онтогенеза особи. Тем не менее, природа использованных нами в эксперименте биологически активных веществ позволяет сосредоточиться на обсуждении роли именно фолатного и метионинового циклов в регуляции активности генов. Как известно, цикл обмена метионина играет критическую роль в метаболизме клетки и дефекты обмена этой аминокислоты ассоциируются с многими заболеваниями (Davis, Uthus, 2004; Gavin, Sharma, 2010; Ma et al., 1999; Refsum et al., 1998; Sharma et al., 1999). Один из метаболитов метионинового цикла, S-аденозилметионин, является универсальным донором метильных групп и субстратом для гистоновых и ДНК метилтрансфераз, которые регулируют генную активность и эпигенетическое наследование (James et al., 2004; Caudill et al., 2001). Аномальная работа метионинового цикла может быть результатом мутаций в генах, которые кодируют ферменты цикла, или дефицита витаминных кофакторов этих ферментов (Duncan et al., 2013). Уровень S-аденозилметионина и скорость ДНК метилтрансферазной реакции зависят от свойств как метионинового, так и фолатного циклов. Эти метаболические циклы, в свою очередь, зависят от потребления с пищей некоторых питательных веществ (метионина, холина, бетаина) и витаминов (B_{12} , фолиевой кислоты, B_6) и находятся под влиянием полиморфизмов в генах ферментов, участвующих в этих циклах (Finkelstein, 1990; Wagner, 2000; Firso, Choi, 2005; Ulrich, 2006). Фолаты, среди разных биологически активных веществ, наиболее изучены в связи с их уникальной функцией посредников переноса одноуглеродных фрагментов при синтезе/восстановлении нуклеотидов и процессов биологического метилирования. Примечательно то, что взаимодействие «ген – питательное вещество» между фолатным статусом и полиморфизмом гена метилентетрагидрофолат редуктазы, как было показано (Firso, Choi, 2005), модифицирует общегеномный уровень метилирования. Это наблюдение лежит в основе предположений, что взаимодействие между особенностями питания и мутантным генотипом способно модулировать экспрессию генов посредством метилирования ДНК, особенно, если мутации или полиморфизмы затрагивают гены ключевых ферментов метаболизма одноуглеродных групп и лимитируют поступление метильных групп в соответствующие реакции. Знание регуляторных механизмов, контролирующих ДНК метилирование, важно для понимания нормального функционирования клеток, генной экспрессии и неопластической трансформации. ДНК метилирование зависит от доступности метильных групп, поставляемых фолатным и метиониновым циклами, от контроля ДНК метилтрансферазной реакции и от доступности цитозинового субстрата, что контролируется гистонами и другими ДНК-связывающими белками (Nijhout et al., 2006).

Для анализа следующего поколения из числа выживших особей F1 были взяты самки и самцы, которые подвергались воздействию избытка одного из препаратов, и далее, в зависимости от варианта эксперимента их, либо скрещивали между собой, либо скрещивали с самцами и самками (соответственно), которые ранее не подвергались такому воздействию. Потомство выращивали на стандартной среде. В качестве контроля использовали особей, предки которых не подвергались воздействию.

Результаты показали, что во втором поколении в линии C-S (рис. 4) отмечается снижение плодовитости с $60,4\pm 3,1$ (контрольная группа) до $51,25\pm 2,97$, если оба родителя подвергались воздействию избытка фолиевой кислоты, но потомство развивалось на стандартной среде, или до $50,3\pm 2,45$ при действии метионина ($\sigma \times \sigma$). В линии *ri* при аналогичных условиях также происходит снижение плодовитости с $50,69\pm 1,73$ до $41,55\pm 2,60$ вследствие избытка фолиевой кислоты. При действии метионина плодовитость в линии *ri* существенно не изменяется ($50,77\pm 2,32$).

При сравнении поколения F1 с F2 можно сделать вывод о том, что избыток метионина или фолиевой кислоты в среде сильнее сказывается на способности особи, непосредственно получающей добавку с пищей, дожить до стадии куколки, чем на плодовитости особей, уже переживших воздействие данного фактора на личиночной стадии. Полученные нами результаты согласуются с исследованиями метионина как пестицида (Lewis et al., 2011), в ходе которых было показано, что избыток данной аминокислоты приводит к массовой (вплоть до 100%) гибели насекомых разных таксономических групп (в основном из отряда Lepidoptera) на стадии личинки.

Общим, в данном случае, между отрядами Diptera (к которому относится дрозофила) и Lepidoptera является щелочная реакция кишечника, а именно присутствие щелочной фосфатазы (ЕС 3.1.3.1.) в мембране микроворсинок кишечника (Lehane, Billingsley, 1996). Механизм такого избирательного действия метионина был установлен после клонирования гена *CAATCH1* (Feldman et al., 2000). Stevens и коллеги показали, что метионин убивает насекомых со щелочной реакцией кишечника и/или имеющих белок CAATCH1. CAATCH1 – это мультифункциональный модулируемый катионами и аминокислотами растворимый переносчик, который ведёт себя как ионный канал для ионов Na^+ , K^+ и H^+ , активатором канала является пролин, а блокатором – метионин (Feldman et al., 2000; Quick, Stevens, 2001; Stevens et al., 2002; Boudko et al., 2005).

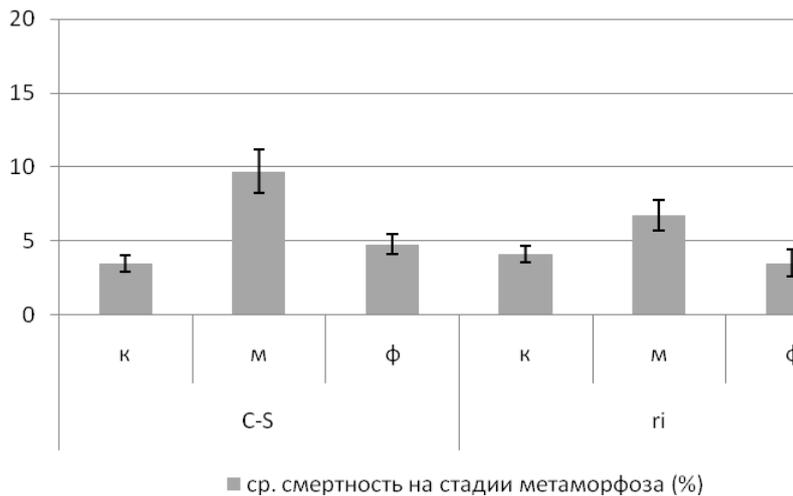


Рис. 3. Влияние избытка фолієвої кислоти или метіоніна в питательной среде, на смертность особей *D. melanogaster* на стадии метаморфоза (к – контрольная группа; м – особи развивались на среде с избытком метіоніна; ф – особи развивались на среде с фолієвої кислотою)

Далее анализировали плодовитость особей в реципрокных скрещиваниях. Т.е. самок и самцов, которые подвергались воздействию одного из используемых препаратов, скрещивали с самцами и самками (соответственно), которые ранее не подвергались такому воздействию. Судя по полученным результатам (рис. 4), снижение плодовитости в линии C-S по сравнению с контрольной группой ($60,4 \pm 3,1$) наблюдается как в скрещиваниях самок, прошедших полный цикл развития на среде с избытком фолієвої кислоты, с необработанными самцами ($o \times k - 55,07 \pm 2,69$), так и в скрещиваниях, где воздействию подвергался только отец ($k \times o - 53,0 \pm 1,76$). Для линии ri характерна противоположная тенденция: плодовитость опытных групп выше ($o \times k - 55,27 \pm 2,97$; $k \times o - 55,9 \pm 2,17$) по сравнению с контрольной ($50,69 \pm 1,73$). При использовании метіоніна полученные результаты (рис. 4) свидетельствуют о том, что оба типа семей ($o \times k$ и $k \times o$) между собой существенно не отличаются по плодовитости. При этом, по сравнению с контрольной группой (аналогичные результаты получены для обеих линий), явно выраженное снижение плодовитости наблюдается в семьях, где воздействию подвергался отец (с $60,4 \pm 3,1$ до $50,0 \pm 3,8$ в линии C-S; с $50,69 \pm 1,73$ до $47,9 \pm 2,8$ в линии ri).

Аналогичные результаты получены и для показателя жизнеспособности (рис. 5). Так, в линии дикого типа C-S жизнеспособность родителей, подвергшихся избыточному действию метіоніна ($48,15 \pm 2,34$), снижена по сравнению с контрольной группой ($58,6 \pm 2,99$). Снижение жизнеспособности по сравнению с контролем наблюдается и в семьях, где только один из родителей подвергался воздействию фактора. При этом более выраженное снижение жизнеспособности отмечается в семьях обработанных самцов (до $47,17 \pm 3,59$), по сравнению с семьями обработанных самок ($52,93 \pm 2,01$). Для линии ri в тех же условиях наблюдается несколько иная изменчивость показателя жизнеспособности. Так, незначительное снижение средних значений показателя по сравнению с контролем ($48,11 \pm 1,52$) происходит в группах, где оба родителя прошли полный цикл развития на среде с метіоніном ($46,54 \pm 2,6$) или где воздействию данного препарата подвергался только отец

(44,7±2,61). В семьях обработанных самок, наоборот, жизнеспособность незначительно повышена (51,7±3,13). При использовании фолиевой кислоты жизнеспособность линии снижалась только в группе (о × о) до 41,7±1,7, а в случае реципрокных скрещиваний отмечено незначительное повышение данного показателя (группа о × к – 50,73±3,02; группа к × о – 50,93±2,17).

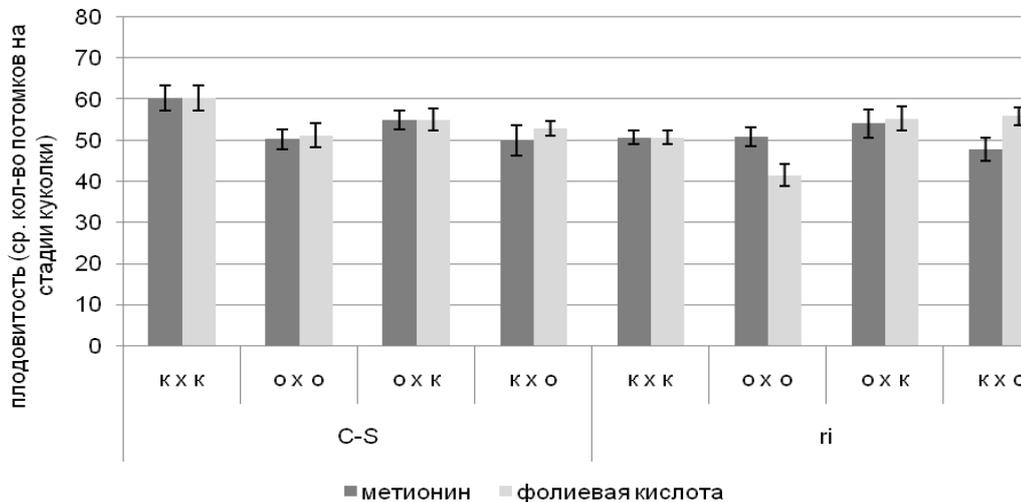


Рис. 4. Изменения плодовитости особей *D. melanogaster*, прошедших полный цикл развития на среде с избытком фолиевой кислоты или метионина

Дисперсионный анализ подтверждает, что воздействие на родителей избытком метионина или фолиевой кислоты влияет на их плодовитость и жизнеспособность, причём это влияние зависит от генотипа линии и пола родителя, подвергавшегося на личиночной стадии воздействию. Отметим, что при действии метионина именно отрицательный эффект на отцовский организм сказывается на плодовитости ($F=6,78$; $p<0,01$) и жизнеспособности линий ($F=10,05$; $p<0,01$). Т.е., можно предположить, что избыток в среде метионина влияет на сперматогенез дрозофилы.

Эффект избытка фолиевой кислоты на плодовитость и жизнеспособность исследованных линий зависит от всех контролируемых в данном эксперименте факторов (табл. 1), а также от сочетанного их действия.

Ранее в исследованиях сотрудников Института здорового старения в экспериментах на дрозофиле было установлено, что плодовитость зависит от количества метионина, а продолжительность жизни – от соотношения метионина и других незаменимых аминокислот. Такие результаты свидетельствуют о том, что баланс аминокислот в естественной для данного вида пище не является оптимальным для продолжительной жизни отдельных особей. Естественный отбор, как и следовало ожидать, оптимизировал организм дрозофил не по долголетию, а по плодовитости, то есть по эффективности преобразования пищи в жизнеспособные яйца (Grandison et al., 2009).

О том, каким образом фолиевая кислота влияет на *D. melanogaster*, информация противоречива. Есть публикации, свидетельствующие в пользу способности дрозофил (а также одного из видов комаров) синтезировать этот витамин (Venters, 1971; Sang, 1956). С другой стороны, есть мнение, что синтез фолатов в организме насекомых осуществляют эндосимбиотические микроорганизмы (Douglas, 1989; Moran, Telang, 1998; Douglas et al., 2001; Sasaki, Ishikawa, 1995). Что же касается конкретно *D. melanogaster*, несмотря на её повсеместное использование в качестве модельного генетического организма, многие аспекты обмена фолатов и физиологии по-прежнему не ясны. Во-первых, упомянутая выше спорная способность синтезировать фолаты. Кроме того, многие исследования демонстрируют повышение выживаемости, репродуктивной способности, усиление роста и интенсификацию развития дрозофил при повышении уровня фолатов. В отсутствие же фолатов в пище особи не способны завершить метаморфоз (Singh, Brown, 1957; Golberg et al., 1945). Теми же авторами, но позже было показано, что если пища взрослой самки не содержит фолатов, большинство отложенных ею яиц будут нежизнеспособными (Sang, King, 1961). В другом исследовании было установлено, что у данного вида потребность в фолатах, получаемых с пищей,

возрастает при содержании личинок на среде со сниженной концентрацией нуклеиновых кислот, повышенной концентрацией белков и глицина или пониженным содержанием серина (Geer, 1963). И, конечно же, многообразие негативных эффектов со стороны фолатных ингибиторов свидетельствует в пользу значительной роли фолиевой кислоты в обеспечении многих биологических функций дрозофил (Hinton, 1952; Affleck et al., 2006; Babaev et al., 1992; Affleck, Walker, 2006). В целом, по данным литературы, известно 23 вида насекомых (представители шести порядков), у которых повышается жизнеспособность и плодовитость при содержании на диетах, обогащённых фолиевой кислотой, по сравнению с теми, что испытывали дефицит фолатов, т.е. в стандартных экспериментах по установлению, является ли вещество витамином (Meillon, Golberg, 1946; Singh, Krishna, 1983; Dadd, 1961; Nijima, 1993).

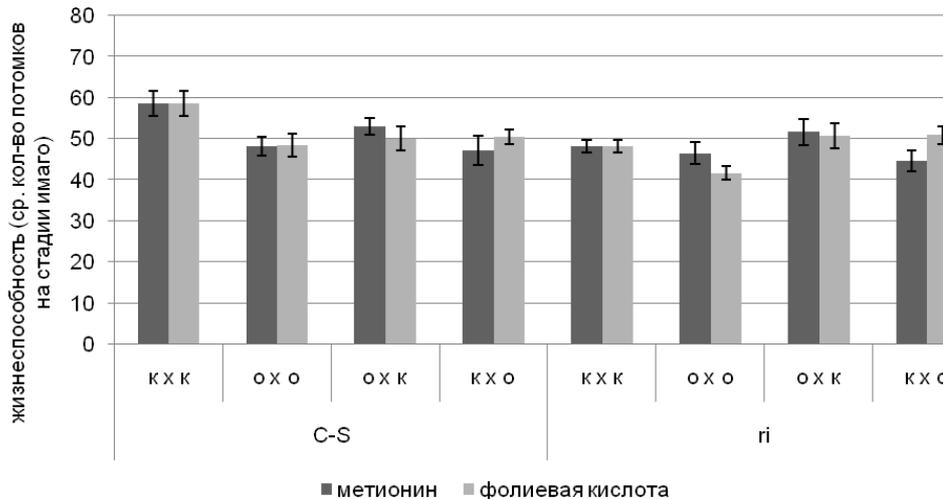


Рис. 5. Изменения жизнеспособности особей *D. melanogaster*, прошедших полный цикл развития на среде с избытком фолиевой кислоты или метионина

Для того чтобы проанализировать причины изменений плодовитости и жизнеспособности линий при действии фолиевой кислоты и метионина в разных вариантах эксперимента, была оценена смертность особей в эмбриогенезе и на стадии метаморфоза.

Полученные результаты (рис. 6) свидетельствуют о том, что, в среднем, уровень рДЛМ (рис. 6 А) в потомстве родителей, прошедших полный цикл развития на среде, обогащённой фолиевой кислотой или метионином, снижен, по сравнению с контрольной группой. Это характерно, как для линии C-S (в контроле – $8,37 \pm 2,09$ %; после действия метионином – $5,23 \pm 1,59$ %; после действия фолиевой кислотой – $4,94 \pm 1,63$ %), так и для линии *ri* (в контроле – $8,49 \pm 1,51$ %; после действия метионином – $4,08 \pm 0,99$ %; после действия фолиевой кислотой – $6,40 \pm 1,34$ %). Причём в линии дикого типа более выражено влияние препарата «Фолиевая кислота», а в мутантной, наоборот, метионина. Аналогичная тенденция была отмечена для уровня пДЛМ (рис. 6 Б) в обеих линиях при воздействии фолиевой кислотой. Так, в линии C-S уровень поздней эмбриональной смертности изменился с $0,37 \pm 0,15$ % в контроле до $0,09 \pm 0,09$ % – в опыте. В линии *ri* наблюдается более четко выраженное снижение данного показателя: с $1,29 \pm 0,36$ % в контроле – до $0,40 \pm 0,15$ % в опыте. Несколько иная картина наблюдалась при воздействии метионином. В линии C-S уровень пДЛМ увеличился в 6 раз в потомстве семей, где оба родителя развивались на среде с добавлением метионина, по сравнению с контрольной группой. В линии *ri* данный показатель, наоборот, снизился по сравнению с контрольной группой в 2 раза. Изменения суммарного уровня эмбриональной смертности (рис. 6 В) в большей степени отражают изменение частоты рДЛМ.

Тенденции изменений уровня ранней эмбриональной смертности (рис. 6 А) в потомстве реципрокных скрещиваний, в которых только один из родителей прошёл полный цикл развития на среде с фолиевой кислотой, различны для двух использованных в эксперименте линий. Так, в линии C-S средние значения уровня рДЛМ выше, если воздействию подвергался отец ($5,99 \pm 2,21$ %; реципрокное – $4,14 \pm 1,80$ %), а в линии *ri*, наоборот, если воздействию подвергалась мать ($11,50 \pm 2,10$ %; реципрокное – $7,11 \pm 1,98$ %). В то же время в линии C-S, по сравнению с контрольной

групой, где ни один из родителей такому воздействию не подвергался ($8,37 \pm 2,09$ %), уровень рДЛМ в потомстве реципрокных скрещиваний ниже. В линии же *ri*, по сравнению с контролем ($8,49 \pm 1,51$), уровень рДЛМ ниже в варианте опыта, если воздействию подвергался отец, а в случае, когда воздействию подвергалась мать, отмечается повышение средних значений показателя. Аналогичная картина в изменении средних значений показателя рДЛМ в реципрокных скрещиваниях по сравнению с контрольной группой наблюдалась и в опыте с метионином. Изменчивость средних значений уровня пДЛМ носит несколько иной характер. В линии C-S потомство скрещивания, в котором воздействию подвергался отец, по уровню пДЛМ не отличается от контрольной группы. В опыте, когда воздействию подвергалась мать, отмечается увеличение уровня пДЛМ. В линии *ri* в варианте, когда воздействию подвергался отец, по сравнению с контрольной группой ($1,29 \pm 0,36$ %), наблюдается незначительное увеличение уровня пДЛМ в опыте с фолиевой кислотой ($1,72 \pm 0,54$ %) и уменьшение – в опыте с метионином ($0,92 \pm 0,45$ %). В варианте, в котором воздействию подвергалась мать, наоборот, наблюдается снижение уровня пДЛМ в обоих вариантах опыта ($0,78 \pm 0,21$ % – фолиевая кислота; до 0 – при действии метионина). Изменения суммарного уровня эмбриональной смертности в потомстве реципрокных скрещиваний сходны с таковыми для показателя рДЛМ.

Таблица 1.

Результаты дисперсионного анализа (влияние пола родителя, подвергавшегося воздействию избытка фолиевой кислоты, на компоненты общей приспособленности)

Фактор	Показатель		Жизнеспособность	
	Ф	р	Ф	р
Генотип линии	4,8	0,03	6,92	0,009
Воздействие на мать	5,2	0,02	4,86	0,03
Воздействие на отца	7,04	0,009	6,71	0,01
Генотип линии + Воздействие на мать	0,14	0,71	0,08	0,77
Генотип линии + Воздействие на отца	0,14	0,71	0,63	0,43
Воздействие на мать + Воздействие на отца	4,29	0,04	1,15	0,29
Генотип линии + Воздействие на мать + Воздействие на отца	9,22	0,003	5,57	0,02

Неоднозначный характер описанных изменений ранней эмбриональной смертности во втором поколении, на наш взгляд, является следствием большой вариабельности контрольной и опытных групп по данным показателям. Тем не менее, при помощи дисперсионного анализа в опыте с фолиевой кислотой удалось подтвердить влияние генотипа линии на уровень пДЛМ ($F=30,33$; $p<0,001$) и на суммарный уровень ДЛМ ($F=4,47$; $p<0,04$), т.е. линия *ri* характеризуется большим уровнем мутабельности, по сравнению с линией дикого типа. Кроме того, подтверждается влияние взаимодействия факторов «генотип» и «воздействие на мать» ($F=4,36$; $p<0,04$) на уровень пДЛМ в эксперименте с фолиевой кислотой, а так же «генотип» и «воздействие на мать» на уровень пДЛМ ($F=8,61$; $p<0,01$) в эксперименте с метионином. Чувствительность матерей (мутантной линии, в частности) избыточному действию фолиевой кислоты и метионина приводит (независимо от того, подвергались ли воздействию отцы) к снижению выхода пДЛМ.

Помимо изменений эмбриональной смертности, в потомстве особей, развивавшихся на среде с добавками, наблюдается повышение уровня смертности на стадии метаморфоза (рис. 7). Следует отметить, что из двух исследованных линий мутантная (*ri*) характеризуется более ярко выраженной реакцией на изменение рациона. Значимое повышение смертности вследствие употребления обоими родителями избытка метионина (до $8,85 \pm 2,07$ %) по сравнению с контрольной группой ($4,73 \pm 0,66$ %), по-видимому, обеспечено преимущественно влиянием на отцовский организм ($6,54 \pm 1,32$ %; в реципрокном скрещивании результат значимо от контроля не отличается). В то же время, фолиевая кислота, скорее всего, оказывает на самок и самцов разное, хотя и негативное действие. Так, в реципрокных скрещиваниях имеет место увеличение смертности потомства ($8,25 \pm 1,34$ % и $8,97 \pm 1,16$ %), а в случае, если оба родителя подвергались воздействию, уровень смертности даже несколько снижен ($4,04 \pm 0,69$ %) по сравнению с контрольной группой ($4,73 \pm 0,66$ %). Для линии дикого типа в аналогичной ситуации отмечается лишь тенденция к повышению уровня смертности во время метаморфоза.

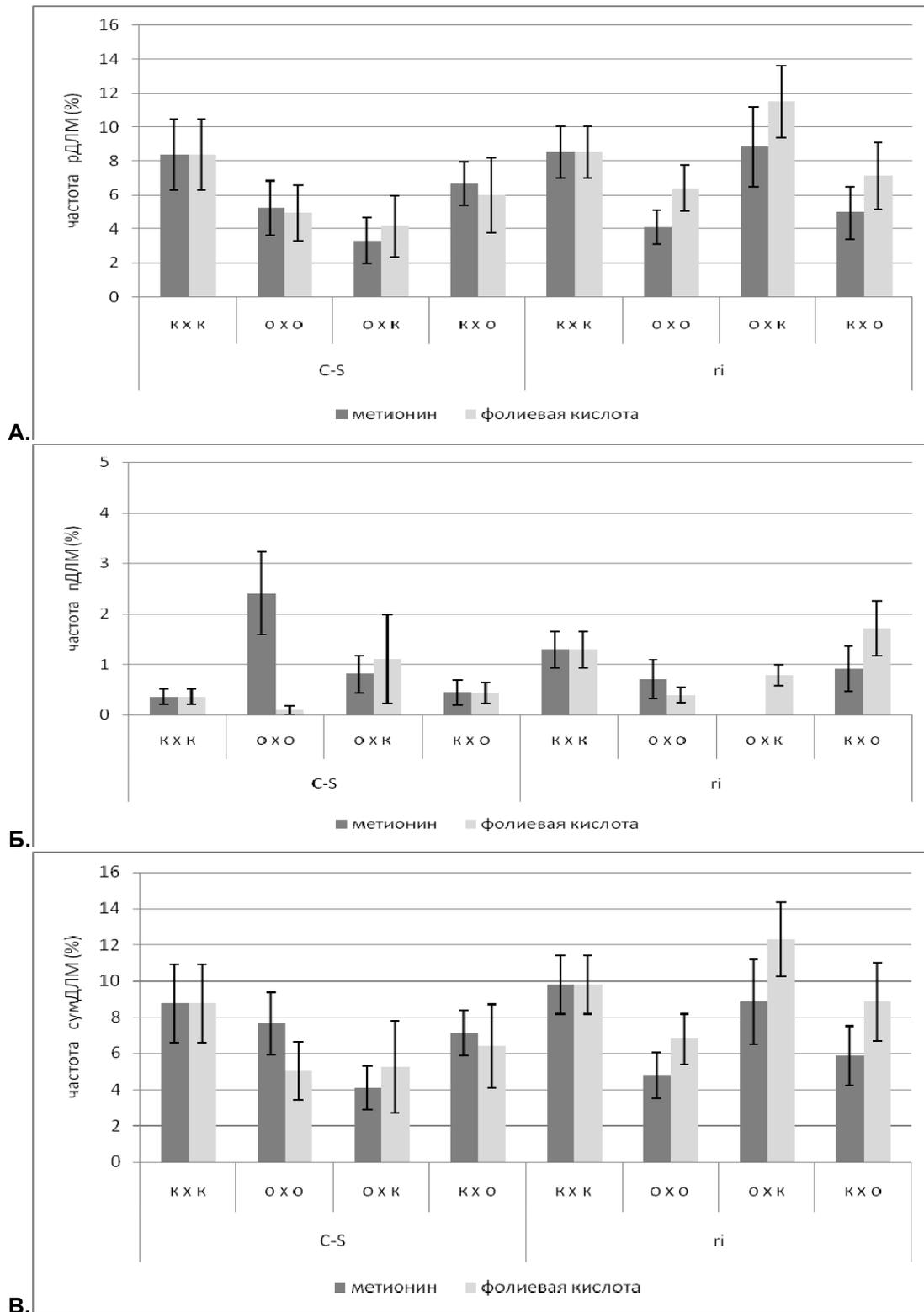


Рис. 6. Изменения уровня смертности в эмбриогенезе *D. melanogaster* среди потомства родителей, подвергавшихся воздействию избытка метионина или фолиевой кислоты

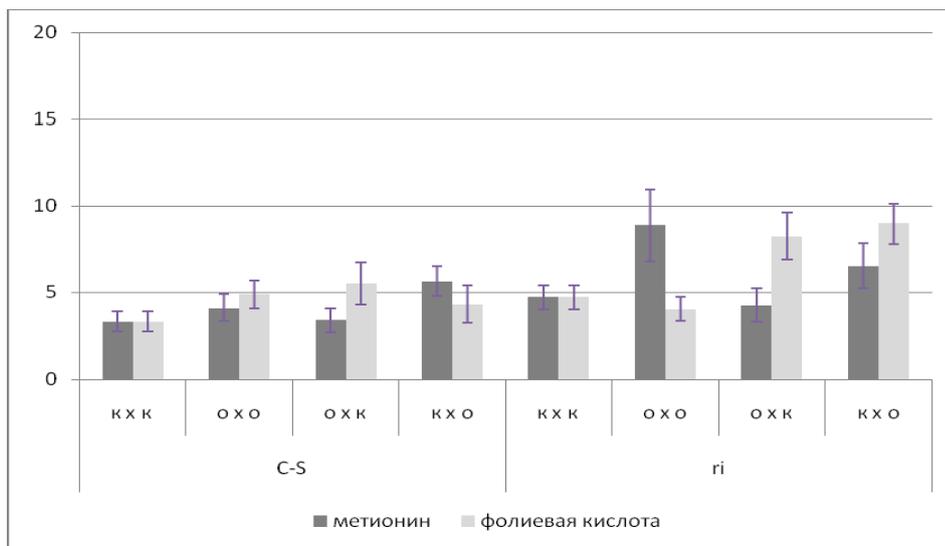


Рис. 7. Изменения уровня смертности на стадии метаморфоза (%) в потомстве особей *D. melanogaster*, прошедших полный цикл развития на среде с избытком фолиевой кислоты или метионина

При помощи дисперсионного анализа удалось подтвердить, что при действии метионина на родительские особи факторами, от которых будут зависеть изменения уровня смертности потомства на стадии метаморфоза, являются генотип линии ($F=7,02$; $p<0,01$) и пол родителя (в данном случае мужской) ($F=10,04$; $p<0,01$). В случае воздействия фолиевой кислоты на родительские особи такими факторами являются также генотип линии ($F=10,0$; $p<0,01$), комбинация эффектов на материнский и отцовский организмы ($F=15,58$; $p<0,001$), а также взаимодействие этих двух факторов ($F=7,56$; $p<0,01$).

Одним из механизмов, активно задействованных в перестройке тела насекомых на стадии метаморфоза, является автофагия. Блокировка этого процесса, как было показано (Juhasz et al., 2003), приводит к гибели особи на стадии куколки. В целом, автофагия выполняет многие функции в организме. Это способ, при помощи которого клетки могут отвечать на метаболический стресс или адаптироваться к изменяющимся условиям среды. То есть, это базовый процесс «домашнего хозяйства» (Mathew, White, 2007), задачей которого является удаление дефектных органелл, макромолекулярных структур, компонентов цитозоля, а также ряд других, специфических для определённого типа клеток функций. Общеизвестными индукторами автофагии являются недостаток питательных веществ и голодание (Kadowski et al., 2006). Это значит, что данный процесс чувствителен к концентрациям нутриентов (аминокислот, глюкозы), гормонов (инсулина, глюкагона), факторов роста и цитокинов (инсулин-подобный фактор роста I, фактор некроза опухолей α , интерлейкин-3) (Tsuji moto, Shimizu, 2005). Соединения – модуляторы автофагии в основном исследуются в связи с их действием на раковые клетки. Тем не менее, способность индуцировать или блокировать механизмы автофагии установлена для ряда биологически активных веществ, нутриентов, лекарственных препаратов и неорганических соединений (Singletary, Milner, 2008). Мы предполагаем, что повышение смертности на стадии метаморфоза вследствие действия метионина и фолиевой кислоты частично может быть вызвано блокировкой автофагии. А межлинейные различия, наблюдающиеся при этом, по-видимому, связаны с различным аллельным составом генов, кодирующих ферменты и структурные белки, задействованные в этом процессе.

Таким образом, подводя итог результатам проведенных экспериментов, можно заключить, что, так как и фолиевая кислота, и метионин необходимы для создания и поддержания в здоровом состоянии новых клеток, их наличие в оптимальном количестве особенно важно в периоды быстрого развития организма – на стадии раннего эмбриогенеза и в период метаморфоза. Многие биохимические процессы в организме (в том числе репликация ДНК и её метилирование) требуют участия фолиевой кислоты и метионина, и нарушение их (как вследствие недостатка указанных веществ, что было неоднократно показано ранее, так и вследствие их избытка, что подтверждено нами в ходе эксперимента) увеличивает опасность появления и проявления мутаций и эпимутаций, и,

как следствие, появления аномалий развития, увеличивающих вероятность летального исхода для особи.

Список литературы

- Васильева Л.А. Анализ системы генов, экспрессирующей неполную радиальную жилку крыла *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 1984. – Т.20, №4. – С. 599–604. /Vasil'yeva L.A. Analiz sistemy genov, ekspressiruyushchey nepolnuyu radial'nyuyu zhilku kryla Drosophila melanogaster // Genetika. – 1984. – Т.20, №4. – С. 599–604./
- Васильева Л.А. Изменение системы жилкования крыла *Drosophila melanogaster* под действием температурного шока и селекции // Журнал общей биологии. – 2005. – Т.66, №1. – С. 68–74. /Vasil'yeva L.A. Izmeneniye sistemy zhilkovaniya kryla Drosophila melanogaster pod deystviyem temperaturnogo shoka i seleksii // Zhurnal obshchey biologii. – 2005. – Т.66, №1. – С. 68–74./
- Докинз Р. Расширенный фенотип: длинная рука гена. – М.: CORPUS, 2011. – 512 с. (С. 305–311). /Dokinz R. Rasshirennyy fenotip: dlinnaya ruka gena. – М.: CORPUS, 2011. – 512 s. (S. 305–311)./
- Журавльова Л., Страшнюк В., Шахбазов В. Вплив щільності культури на прояв ефекту гетерозису у *Drosophila melanogaster* // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2002. – Вип.35. – С. 102–109. /Zhuravlyova L., Strashnyuk V., Shakhbazov V. Vplyv shhil'nosti kultury na proyav efektu geterozyosu u Drosophila melanogaster // Visnik L'vivs'kogo universytetu. Seriya biologichna. – 2002. – Vyp.35. – С. 102–109./
- Кайданов Л.З. Анализ генетических последствий отбора и инбридинга у *Drosophila melanogaster* // Журнал общей биологии. – 1979. – Т.60, №6. – С. 834–849. /Kaydanov L.Z. Analiz geneticheskikh posledstviy otbora i inbridinga u Drosophila melanogaster // Zhurnal obshchey biologii. – 1979. – Т.60, №6. – С. 834–849./
- Левчук Л.В., Тоцький В.М. Заміщення хромосом і пристосованість генотипів *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. – 1998. – Т.32, №2. – С. 42–48. /Levchuk L.V., Tots'kyi V.M. Zamishchennya khromosom i prystosovanist' genotypiv Drosophila melanogaster // Tsitologiya i genetika. – 1998. – Т.32, №2. – С. 42–48./
- Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле / Под ред. В.В.Хвостовой, Л.И.Корочкина, М.Д.Голубовского. – Новосибирск: Наука, 1977. – 277с. /Problemy genetiki v issledovaniyakh na drozofile / Pod red. V.V.Khvostovoy, L.I.Korochkina, M.D.Golubovskogo. – Novosibirsk: Nauka, 1977. – 277s./
- Рарог М.А., Воробьева Л.И., Кирпиченко Т.В. Динамика изменения некоторых компонентов приспособленности в онтогенезе дрозофилы // Онтогенез. – 1998. – Т.29, №1. – С. 52–56. /Rarog M.A., Vorobyova L.I., Kirpichenko T.V. Dinamika izmeneniya nekotorykh komponentov prispособlennosti v ontogeneze drozofily // Ontogenez. – 1998. – Т.29, №1. – С. 52–56./
- Ратнер В.А., Васильева Л.А. Количественный признак у дрозофилы: генетические, онтогенетические, цитогенетические и популяционные аспекты // Генетика. – 1987. – Т.23, №6. – С. 1070–1081. /Ratner V.A., Vasilyeva L.A. Kolichestvennyy priznak u drozofily: geneticheskkiye, ontogeneticheskkiye, tsitogeneticheskkiye i populyatsionnyye aspekty // Genetika. – 1987. – Т.23, №6. – С. 1070–1081./
- Суходолец В.В. Неопределённость «приспособленности» или что мешает пониманию роли генетического обмена // Генетика. – 2005. – Т.41, №10. – С. 1322–1330. /Sukhodolets V.V. Neopredelyonnost' «prispособlennosti» ili chto meshayet ponimaniyu roli geneticheskogo obmena // Genetika. – 2005. – Т.41, №10. – С. 1322–1330./
- Тихомирова М.М. Генетический анализ: Учеб. пособие. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1990. – 280с. /Tikhomirova M.M. Geneticheskyy analiz: Ucheb. posobiye. – L.: Izd-vo LGU, 1990. – 280s./
- Affleck J.G., Neumann K., Wong L., Walker V. K. The effects of methotrexate on *Drosophila* development, female fecundity, and gene expression // Toxicological Sciences. – 2006. – Vol.89, №2. – P. 495–503.
- Affleck J.G., Walker V.K. A *Drosophila* model for methotrexate developmental toxicity and teratogenicity // Medical Hypotheses and Research. – 2006. – Vol.3, №3/4. – P. 813–825.
- Averous J., Bruhat A., Mordier S., Fafournoux P. Recent advances in the understanding of amino acid regulation of gene expression // J. Nutr. – 2003. – Vol.133. – P. 2040S–2045S.
- Babaev S.A., Drozdovskaia L.N., Rapoport I.A. The bilateral asymmetry of the number of bristles in *Drosophila* occurring under the influence of methotrexate // Izv. Akad. Nauk SSSR Biol. – 1992. – Vol.2. – P. 291–295.
- Bender D. Folate and other pterins and vitamin B12. Nutritional biochemistry of the vitamins. – Cambridge UK: Cambridge University Press, 2003. – P. 270–322.
- Blatch S. The effects of folic acid on endosymbionts, growth, and metabolites of the fruit fly *Drosophila melanogaster*. Doctoral Thesis. Dissertation. – Arizona State University, 2008. – 129p.
- Boudko D.Y., Kohn A.B., Meleshkevitch E.A. et al. Ancestry and progeny of nutrient amino acid transporters // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2005. – Vol.102. – P. 1360–1365.
- Bruhat A., Fafournoux P. Recent advances on molecular mechanisms involved in amino acid control of gene expression // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2001. – Vol.4. – P. 439–443.
- Caudill M., Wang J., Melnyk S. et al. Intracellular S-adenosylhomocysteine concentrations predict global DNA hypomethylation in tissues of methyl-deficient cystathionine β -synthase heterozygous mice // J. Nutr. – 2001. – Vol.131. – P. 2811–2818.

- Dadd R.H. The nutritional requirements of locusts. 4. requirements for vitamins of the B-Complex // J. Insect Physiol. – 1961. – Vol.6. – P. 1–12.
- Davis C., Uthus E. DNA methylation, cancer susceptibility, and nutrient interactions // Exp. Biol. Med. – 2004. – Vol.229, Iss. 10. – P. 988–995.
- Douglas A.E., Minto L.B., Wilkinson T.L. Quantifying nutrient production by the microbial symbionts in an aphid // J. Exp. Biol. – 2001. – Vol.204. – P. 349–358.
- Douglas A.E. Mycetocyte symbiosis in insects // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. – 1989. – Vol.64. – P. 409–434.
- Duncan T.M., Reed M.C., Nijhout H.F. The relationship between intracellular and plasma levels of folate and metabolites in the methionine cycle: a model // Mol. Nutr. Food Res. – 2013. – Vol.57, №4. – P. 628–636.
- Duplus E., Glorian M., Forest C. Fatty acid regulation of gene transcription // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol. 275. – P. 30749–30752.
- Fafournoux P., Bruhat A., Jousse C. Amino acid regulation of gene expression // Biochem. J. – 2000. – Vol.351. – P. 1–12.
- Feldman D.H., Harvey W.R., Stevens B.R. A novel electrogenic amino acid transporter is activated by K⁺ or Na⁺, is alkaline pH-dependent, and is Cl⁻-independent // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol.275. – P. 24518–24526.
- Finkelstein J.D. Methionine metabolism in mammals // J. Nutr. Biochem. – 1990. – Vol.1. – P. 228–237.
- Firso F., Choi S.-W. Gene-nutrient interactions in one-carbon metabolism // Current Drug Metabolism. – 2005. – Vol.6. – P. 37–46.
- Foufelle F., Girard J., Ferre P. Glucose regulation of gene expression // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 1998. – Vol.1. – P. 323–328.
- Gavin D., Sharma R. Histone modifications, DNA methylation, and schizophrenia // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2010. – Vol.34, Iss. 6. – P. 882–888.
- Geer B. W. A ribonucleic acid-protein relationship in *Drosophila* nutrition // J. Exp. Zool. – 1963. – Vol.154. – P. 353–364.
- Golberg L., de Meillon B., Lavoipierre M. The nutrition of the larva of *Aedes aegypti* L. II. Essential water-soluble factors from yeast // J. Exp. Biol. – 1945. – Vol.21. – P. 90–96.
- Grandison R.C., Piper M.D.W., Partridge L. Amino-acid imbalance explains extension of lifespan by dietary restriction in *Drosophila* // Nature. – 2009. – Vol.462. – P. 1061–1065.
- Grimaldi P.A. Fatty acid regulation of gene expression // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2001. – Vol.4. – P. 433–437.
- Hinton T. A quantitative study of folic acid requirements and reversal of aminopterin inhibition in *Drosophila* // Science. – 1952. – Vol.116. – P. 708–710.
- Hirsh J. Behavior – genetic analysis. – New York, Mc Graw–Hill, Inc., 1967. – 522p.(p.6).
- James S., Cutler P., Melnyk S. et al. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism // Am. J. Clin. Nutr. – 2004. – Vol.80, Iss. 6. – P. 1611–1617.
- Jones P.A., Baylin S.B. The fundamental role of epigenetic events in cancer // Nat. Rev. Genet. – 2002. – Vol.3. – P. 415–426. [PubMed: 12042769]
- Juhasz G., Csikos G., Sinka R. et al. The *Drosophila* homolog of *Aut1* is essential for autophagy and development // FEBS Lett. – 2003. – Vol.543. – P. 154–158.
- Kadowski M., Karim M., Carpi A., Miotto G. Nutrient control of macroautophagy in mammalian cells // Mol. Aspects Med. – 2006. – Vol.27. – P. 426–443.
- Kilberg M.S., Barbosa-Tessmann I.P. Genomic sequences necessary for transcriptional activation by amino acid deprivation of mammalian cells // J. Nutr. – 2002. – Vol.132. – P. 1801–1804.
- Le Menn A., Silber J., Goux J. Etude l'effet de deux inhibiteurs de la synthèse des nucleotides l'aminoptérine et la fluoroder'soxyuridine sur vant des souches sauvage et mutantes vestigial chez *Drosophila melanogaster* // Biol. Cell. – 1983. – Vol.49. – P. 213–218.
- Lehane M., Billingsley P. Biology of the insect midgut. – Springer, 1996. – 486p.
- Lewis D.S., Cuda J.P., Stevens B.R. A novel biorational pesticide: efficacy of methionine against *Heraclides (Papilio) cresphontes*, a surrogate of the invasive *Princeps (Papilio) demoleus (Lepidoptera: Papilionidae)* // Journal of Economic Entomology. – 2011. – Vol.104, №6. – P. 1986–1990.
- Lindsley D.L., Grell E.H. Genetic variations of *Drosophila melanogaster*. – Carnegie Just. Wash. Publ. – 1968. – 627p.
- Ma J., Stampfer M., Christensen B. et al. Apolymorphism of the methioninesynthase gene: association with plasma folate, vitamin B12, homocysteine, and colorectal cancer risk // Cancer Epidemiology Biomarkers Prev. – 1999. – Vol.8, Iss. 9. – P. 825–829.
- Mathew R., White E. Why sick cells produce tumors // Autophagy. – 2007. – Vol.3. – P. 502–505.

- Meillon B., Golberg L. Nutritional studies on bloodsucking arthropods // Nature. – 1946. – Vol.158. – P. 269–270.
- Michal G., Schomburg D. Biochemical pathways: an atlas of biochemistry and molecular biology. – New York: John Wiley and Sons Inc., 2013. – 416p.
- Moran N.A., Telang A. Bacteriocyte-associated symbionts of insects. A variety of insect groups harbor ancient prokaryotic endosymbionts // Bioscience. – 1998. – Vol.48. – P. 295–304.
- Mordier S., Bruhat A., Averous J., Fafournoux P. Cellular adaptation to amino acid availability: mechanisms involved in the regulation of gene expression and protein metabolism / In: Cell and Molecular Responses to Stress. Vol.3. Sensing, Signaling and Cell Adaptation (Storey K.M. & Storey J.M., eds.). – Elsevier Science, New York, 2002. – P. 189–206.
- Nijijima K. Nutritional studies on an Aphidophagous Chrysopid, *Chrysopa septempunctata* Wesmael (Neuroptera: Chrysopidae) III. Vitamin requirement for larval development // Appl. Entomol. Zool. – 1993. – Vol.28. – P. 89–95.
- Nijhout H.F., Reed M.C., Anderson D.E. et al. Long-range allosteric interactions between the folate and methionine cycles stabilize DNA methylation reaction rate // Epigenetics. – 2006. – Vol.1, №2. – P. 81–87.
- Pe'gorier J.P. Regulation of gene expression by fatty acids // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 1998. – Vol.1. – P. 329–334.
- Quick M., Stevens B.R. Amino acid transporter CAATCH1 is also an amino acid-gated cation channel // J. Biol. Chem. – 2001. – Vol.276. – P. 33413–33418.
- Refsum H., Ueland P., Nygard O., Vollset S. Homocysteine and cardiovascular disease // Ann. Rev. Med. – 1998. – Vol.49. – P. 31–62.
- Sang J.H., King R.C. Nutritional requirements of axenically cultured *Drosophila melanogaster* adults // J. Exp. Biol. – 1961. – Vol.38. – P. 793–809.
- Sang J.H. The quantitative nutritional requirements of *Drosophila melanogaster* // J. Exp. Biol. – 1956. – Vol.33. – P. 45–72.
- Sasaki T., Ishikawa H. Production of essential amino acids from glutamate by mycetocyte symbionts of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* // J. Insect. Physiol. – 1995. – Vol.41. – P. 41–46.
- Sharma A., Kramer M., Wick P. et al. D4 dopamine receptor-mediated phospholipid methylation and its implications for mental illnesses such as schizophrenia // Mol. Psychiatry. – 1999. – Vol.4. – P. 235–246.
- Singh K.R.P., Brown A.W.A. Nutritional requirements of *Aedes aegypti* L. // J. Insect. Physiol. – 1957. – Vol.1. – P. 199–220.
- Singh R.N., Krishna S.S. The impact of variation in adult food on the reproductive programming in *Tribolium castaneum* (Herbst), (Coleoptera: Tenebrionidae) // New Entomologist. – 1983. – Vol.32. – P. 23–30.
- Singletary K., Milner J. Diet, autophagy, and cancer: a review // Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. – 2008. – Vol.17. – P. 1596–1610.
- Stevens B.R., Feldman D.H., Liu Z., Harvey W. R. Conserved tyrosine-147 plays a critical role in the ligand-gated current of the epithelial cation/amino acid transporter/channel CAATCH1 // J. Exp. Biol. – 2002. – Vol.205. – P. 2545–2553.
- Towle H.C. Metabolic regulation of gene transcription in mammals // J. Biol. Chem. – 1995. – Vol.270. – P. 23235–23238.
- Tsujiimoto Y., Shimizu S. Another way to die: autophagic programmed cell death // Cell Death Differ. – 2005. – Vol.12. – P. 1528–1534.
- Ulrich C.M. Genetic variability in folate-mediated one-carbon metabolism and cancer risk / In: Choi S.-W., Friso S., eds. Nutrient-gene interactions in cancer. – Taylor & Francis, 2006. – 296p.
- Vaulont S., Vasseur-Cognet M., Kahn A. Glucose regulation of gene transcription // J. Biol. Chem. – 2000. – Vol.275. – P. 31555–31558.
- Venters D. Folate synthesis in *Ae. aegypti* and *Drosophila melanogaster* larvae // Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. – 1971. – Vol.65. – P. 687–678.
- Wagner C. Biochemical role of folate in cellular metabolism / In: Bailey L.B., ed. Folate in health and disease. – New York: Marcel Dekker, 2000. – P. 23–42.

Представлено: П.Ю.Монтвид / Presented by: P.Yu.Montvid

Рецензент: А.В.Некрасова / Reviewer: A.V.Nekrasova

Подано до редакції / Received: 2.03.2013